

通用基因组DNA提取试剂盒

产品货号: 26240

产品规格: 50T/100T

产品简介:

本试剂盒为通用型, 适合于从土壤, 粪便, 昆虫, 以及其他样本中提取基因组DNA。对细菌, 真菌, 昆虫等样本都具有很好的裂解效果, 最大限度的保留了生物DNA的多态性。使用本试剂盒提取的DNA产量大、完整性好, 可直接用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

产品组成:

试剂名称	50T	100T
RNase A	1ml	1ml×2
蛋白酶 K	1ml	1ml×2
溶液 A	25ml	50ml
溶液 B	25ml	50ml
漂洗液	15ml	15ml×2
洗脱液	15ml	30ml
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个

操作步骤:

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1. 样品的处理:

1) 土壤: 称取 0.1-0.3g (根据干湿) 土壤, 放入研钵中, 倒入适量的液氮, 立即研磨, 重复 3 次, 使土壤颗粒研成粉末, 加 500ul 溶液 A, 振荡至彻底悬浮。

2) 粪便: 称取 0.1-0.3g (根据干湿) 粪便, 加 500ul 溶液 A, 振荡至彻底悬浮。

3) 昆虫: 称取 0.1-0.3g 昆虫, 倒入适量的液氮, 立即研磨, 重复 3 次, 使昆虫研成粉末, 加 500ul 溶液 A, 振荡至彻底悬浮。

4) 未知样品, 如为细末状, 可直接称取 0.1-0.3g (根据干湿) 加 500ul 溶液 A, 如为块状, 可 0.1-0.3g 用液氮研磨成粉末, 再加 500ul 溶液 A, 振荡至彻底悬浮。

2. 向悬浮液中加入 20ul 的 RNase A (10mg/ml), 55°C 放置 10min。

3. 加入 20ul 的蛋白酶 K (10mg/ml), 充分混匀, 55°C 水浴消化, 30min。消化期间可颠倒离心管混匀数次, 12000 转离心 10min。将上清转移到一个新的离心管中。如有沉淀, 可再次离心。

4. 加入 500ul 溶液 B, 充分混匀。如出现白色沉淀, 于 55°C 放置 5min, 沉淀即会消失, 不影响后续实验。如溶液未变清亮, 说明样品消化不彻底, 可能导致提取 DNA 量少及不纯, 还有可能导致上柱后堵柱子, 请增加消化时间。

5. 加入 500ul 无水乙醇, 充分混匀, 此时可能会出现絮状沉淀, 不影响 DNA 的提取, 可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中, 放置 2min (分两次加入, 每次 700ul)。

6. 12000rpm 离心 2min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话: 400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

7. 向吸附柱中加入 600ul 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。
8. 向吸附柱中加入 600ul 漂洗液, 12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。
9. 12000rpm 离心 2min, 将吸附柱置于室温或 50℃温箱放置数分钟, 目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。
10. 将吸附柱放入一个干净的离心管中, 向吸附膜中央悬空滴加 50-200ul 经 65℃水浴预热的洗脱液, 室温放置 5min, 12000rpm 离心 2min。
11. 离心所得洗脱液再加入吸附柱中, 室温放置 2min, 12000rpm 离心 2min, 即可得到高质量的基因组 DNA。

注意事项:

1. 由于样品不同, 最终提取的 DNA 含量和纯度也有所不同, 一般来说, 如果所提取 DNA 用电泳的方法检测不到, PCR 会有结果, 样品尽可能的新鲜。否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若试剂盒中的溶液出现沉淀, 可在 65℃水浴中重新溶解后再使用, 不影响提取效果。
3. 如果样品消化不彻底, 后面的离心步骤中可能会出现堵柱子的情况, 可适当延长离心时间。
4. 洗脱缓冲液的体积最好不少于 50ul, 体积过小会影响回收效率; 洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响, 若需用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围), pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率; DNA 产物应保存在-20℃, 以防 DNA 降解。
5. DNA 浓度及纯度检测(浓度较高时): 得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰, OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50μg/ml 双链 DNA、40μg/ml 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用去离子水, 比值会偏低, 因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

保存条件:

室温(15-25℃) 干燥保存, 复检期 12 个月, 2-8℃保存时间更长。开封后请将 RNase A, 蛋白酶 K 于-20℃保存。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话:400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱: saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>