

哺乳动物基因组 DNA 抽提试剂盒

产品简介:

用分子生物学技术研究复杂的基因组, 首先要求制备纯净的高分子质量 DNA, 一般分为两个步骤, 先裂解细胞、溶解 DNA, 接着采用酶学或化学方法去除蛋白、RNA 以及其他大分子。

Leagene 哺乳动物基因组 DNA 抽提试剂盒(Mammalian genomic DNA extraction kit)采用经典的蛋白酶 K 处理法, 可以抽提到 100 ~ 150kb 以上的基因组 DNA, 提取的基因组 DNA 可用于 Southern 杂交、基因组 DNA 的 PCR 扩增及基因组 DNA 文库的构建等。该试剂盒的提取效率大致为: 从 1g 组织可以提取到约 150 ~ 200 μ g 100kb 以上的基因组 DNA, 从 10^6 ~ 10^7 Hela 细胞可以提取到约 5 ~ 50 μ g 100kb 以上的基因组 DNA。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成:

名称 \ 编号	NE0201 50T	Storage
试剂(A): 样品裂解液	50ml	4°C
试剂(B): 蛋白酶 K 溶液	500 μ l	-20°C 避光
试剂(C): 乙酸铵溶液	10ml	RT
试剂(D): Nuclease Free Water	10ml	RT
使用说明书	1 份	

自备材料:

- 1、 组织或培养细胞
- 2、 PBS、无水乙醇、70%乙醇、25:24:1 酚/氯仿/异戊醇
- 3、 离心机、研钵、剪刀、恒温箱、EP 管

操作步骤(仅供参考):

- 1、 准备样品: ①组织样本: 切下组织并立即剪成小块, 置于液氮中冻结, 将 100mg 冻结的组织用预冷的研钵和研杵研碎或用锤子将其捣成碎末; ②培养细胞: 收集贴壁生长或悬浮生长细胞培养液, 贴壁生长细胞需先用胰蛋白酶消化液消化, 再用 PBS 清洗 1 次。4°C 离心机, 1500rpm 离心 1 ~ 2min, 弃上清, 用 1 ~ 2ml 预冷的 PBS 再次悬浮离心, 如此 2 洗涤次。
- 2、 每 1ml 样品裂解液加入 5 μ l 的蛋白酶 K 溶液, 混匀。每 50mg 组织或 5×10^7 细胞用

- 0.45~0.55ml 样品裂解液悬浮，悬浮应彻底，不应留下结块。
- 充分混匀，50°C振荡下温育 12~18h 或过夜。
 - 加入等体积 25:24:1 酚/氯仿/异戊醇，轻轻混合，尽可能减少对 DNA 的剪切。
 - 吸出酚相及中间相(可以吸除少量靠近中间相的水相液体)，剩余的水相用等体积酚/氯仿/异戊醇再抽提 1 次；重复该步骤 1 次。
 - 吸取上层液(水溶液)250~300µl 至新 EP 管中，加入等体积无水乙醇和 1/4 体积的乙酸铵溶液，颠倒混匀数次。4°C 10000rpm 离心 1min，弃上清。
 - 向沉淀中加入 70%乙醇，4°C 10000rpm 离心 1min，弃上清。重复该步骤一次。
 - 尽量吸除残余的乙醇，空气干燥，等到不到明显液体时，立即加入 50~100µl Nuclease Free Water 溶解 DNA，4°C或-20°C保存。注意：不可过分干燥基因组 DNA 沉淀，否则会极难溶解；如果发现 DNA 沉淀难以溶解，可以在 4°C用摇床缓慢摇动过夜，以溶解 DNA 沉淀。
 - A_{260}/A_{280} 处检测 DNA 纯度，高纯度的 DNA 一般 $A_{260}/A_{280} > 1.8$ 。

注意事项：

- 如果打算提取大片段的基因组 DNA，应尽量避免基因组 DNA 的物理性剪切。例如避免剧烈振荡含有基因组 DNA 的样品，可以用剪掉枪头尖的枪头吸取基因组 DNA 的样品。
- 准备细胞样品时，如果细胞量过少($< 3 \times 10^7$)，应 0.3ml 含蛋白酶 K 的样品裂解液。
- 为避免高分子质量 DNA 被剪切，可以不采用乙醇沉淀 DNA，可用透析袋替代乙醇：在 100 倍体积的 TE Buffer 中至少透析 2 次，所用取全部时间应 $> 24h$ 。
- 不可过分干燥基因组 DNA 沉淀，否则会极难溶解。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。
- 试剂开封后请尽快使用，以防影响后续实验效果。

有效期：12 个月有效；低温运输，按要求保存。

相关产品：

产品编号	产品名称
CC0130	胰蛋白酶-EDTA 溶液(0.25%:0.02%)
CS0001	ACK 红细胞裂解液(ACK Lysis Buffer)
DH0006	苏木素伊红(HE)染色液(醇溶)
NE0301	核酸助沉剂(Glycogen,5mg/ml)
PT0001	BCA 蛋白定量试剂盒
PW0053	Western 抗体洗脱液(碱性)
TC0699	植物总糖和还原糖检测试剂盒(DNS 比色法)