

离心柱法动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

【产品介绍】

本试剂盒采用酶裂解法裂解样本，适合从 10-50 mg 动物组织样本或 10^6 左右的培养细胞中高效提取基因组 DNA。提取的 DNA 适用于酶切、PCR、测序、文库构建等下游分子生物学实验。

【特点】

裂解能力强，无需对样本进行物理裂解，有效去除蛋白质、盐类、脂类等杂质，所得基因组 DNA 纯度高、提取量大。

【试剂盒组成】

组分	目录号：CP-009-0（50 次）	目录号：CP-009-1（50 次）
组织裂解液 CTL	12 mL	12 mL
结合液 CBB	12 mL	12 mL
去蛋白液 CCB	9 mL	9 mL
洗涤液 CWB	12 mL	12 mL
洗脱液 EB	20 mL	20 mL
蛋白酶 K（20 mg/mL）	1.1 mL	1.1 mL
RNase A（10 mg/mL）	/	550 μ L
离心柱（含收集管）	50 个	50 个

【保存条件】

蛋白酶 K 和 RNase A 保存于 -20 $^{\circ}$ C，试剂盒其它成分置于室温干燥处保存。

【操作步骤】

使用前添加 21 mL 无水乙醇到去蛋白液 CCB；添加 48 mL 无水乙醇到洗涤液 CWB，并做好标记。

所有离心均在室温下进行。

1. 在液氮研磨、匀浆或切碎的组织样品中加入 200 μ L 组织裂解液 CTL 以及 20 μ L 蛋白酶 K，水浴或金属浴中 56 $^{\circ}$ C 加热消化至组织裂解完全，期间多次涡旋振荡加速裂解。（如需去除 RNA，可在裂解样品冷却后加入 10 μ L RNase A，室温处理 2 min）。
2. 加入 200 μ L 结合液 CBB 以及 200 μ L 无水乙醇，涡旋 15 s 充分混匀。
3. 短暂离心，将所有溶液加入离心柱中，12,000 \times g 离心 1 min，弃流出液。
4. 加入 500 μ L 去蛋白液 CCB（使用前确定已加入无水乙醇），12,000 \times g 离心 30 s，弃流出液。
5. 加入 500 μ L 洗涤液 CWB（使用前确定已加入无水乙醇），12,000 \times g 离心 30 s，弃流出液。

6. 重复步骤 5 一次。
7. 把离心柱放回收集管中，将空柱子于 $15,000\times g$ 离心 2 min 以便彻底去除残留的 CWB。
8. 将离心柱置于一干净的离心管中，在超净台中开盖风干柱膜 3-5 min (CWB 中的乙醇残留可能抑制下游反应)。
9. 在离心柱膜中央加入 30-100 μL 洗脱液 EB，静置 1 min (如需提高洗脱效率，可提前将 EB 置于 $60-70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水浴或金属浴中预热)。
10. $12,000\times g$ 离心 1 min，洗脱 DNA，所得 DNA 置于 $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 中长期保存。

【使用注意】

- 为避免产物污染或降解，建议使用干净、无 DNase 污染的器械或耗材。
- 溶液使用前尽量充分混匀，同时注意避免溶液间交叉污染。
- 尽量切碎组织，以免影响裂解效果；完全裂解后，溶液透亮、无组织碎块、无凝胶状粘稠物。
- 样品用量不宜过多，以免影响提取效果。
- 为保证所提取 DNA 的质量，使用新鲜的材料，避免反复冻融；DNA 的质量取决于材料的种类，保存的时间等。