

基因组 DNA 提取试剂盒（细胞或组织） 说明书

【产品名称】

中文名称：基因组 DNA 提取试剂盒（细胞或组织）
货号：KR008A/50 次

【产品简介】

本试剂盒为从动物组织中提取基因组 DNA 提供一种简便、快速、高效的方法，操作更为简单、安全。本试剂盒可以抽提包括肝脏、肾脏、肌肉、小鼠尾巴、培养细胞等样本的 DNA。提取的基因组 DNA 片段大、纯度高，质量稳定可靠，可直接应用于 PCR、Q-PCR、酶切、文库构建、Southern 杂交等下游实验。

不同样本的基因组 DNA 提取参考量见下表：

样 本	样本量	预期 DNA 量
脾脏	25mg	20-30 μ g
肝脏	25mg	13-22 μ g
肾脏	25mg	8-10 μ g
心脏	25mg	2-5 μ g
脑组织	25mg	2-5 μ g
鼠尾	25mg	15-25 μ g
Hela Cells	1×10^6	5-6 μ g

通过本试剂盒获得的基因组 DNA，OD260/OD280 的范围通常在 1.7 至 1.9 之间。

【产品内容】

产品组成	规格	说明	保存条件
Proteinase K 缓冲液 KB	12 mL		
结合液 BS	28 mL		
洗涤液 WB1	6 mL	使用前按 1:4 用无水乙醇稀释	
洗涤液 WB2	28 mL	使用前加入 84 mL 无水乙醇	
无核酸酶污染纯水	6 mL		室温
50% 甘油	1.5 mL		
洗涤液 WB1 稀释瓶 7-mL	1 个		
DNA 吸附柱	50 支		
收集管 2-mL	50 支		
无核酸酶污染 离心管 1.5-mL	50 支		
Proteinase K	1 瓶	使用前加入 1.2 mL 50% 甘油，于 -20℃ 保存	4℃

*已充分考虑到每次吸取试剂时的损耗，试剂有效期为 12 个月。

【使用前注意事项】

1. 试剂盒中 Proteinase K 为冻干粉，于 4℃ 保存；使用前加入 1.2 mL 50% 甘油后于 -20℃ 保存。
2. 洗涤液 WB1 在使用前需按 1:4 用无水乙醇稀释，稀释液可在室温下保存 1 周。洗涤液 WB1 稀释瓶供步骤 5 中稀释 WB1 使用。
3. 第一次使用前应在洗涤液 WB2 中加入 84 mL 无水乙醇。
4. 需自备若干无核酸酶污染的离心管，本试剂盒提供的 50 支无核酸酶污染的离心管仅用于收集最终提取的 DNA 溶液。

【操作步骤】

1. 样品处理

1.1 动物组织

取动物组织 20-30mg，加入 500 μ L PBS 中，用匀浆器充分研磨后，转移到 1.5-mL 离心管(自备)中，13,000 rpm 离心 1 min，弃上清，在离心管中加入 200 μ L KB(Proteinase K 缓冲液)，在涡旋振荡器上充分震荡或用移液器吹吸混匀，加入 20 μ L 的 Proteinase K。

注意：建议使用电动匀浆器。当样品量较大时，请按照 30mg 组织量:500 μ L PBS 的比例进行匀浆。PBS 建议配方为 137mM NaCl、2.7mM KCl、10mM Na₂HPO₄、2mM KH₂PO₄，pH 7.4。生理盐水也可用于匀浆。不适合匀浆的样本可在液氮中磨成细粉，或尽量剪碎（例如鼠尾）。

1.2 培养细胞

将细胞连同培养液一起转移至 1.5-mL 离心管(自备)中，500 $\times$ g 离心 5 min，弃上清，多次收集得到所需的细胞数。加入 200 μ L KB(Proteinase K 缓冲液)，用枪头轻柔吹吸将细胞悬浮混匀，加入 20 μ L 的 Proteinase K。

注意：细胞量与 KB 量的比例会影响实验的结果，当细胞量较大时，请按照 5×10^6 细胞量:200 μ L KB 的比例进行实验。

2. 将离心管置于 55℃ 温浴 30min。

注意：易于消化的组织（例如肝脏）温浴 30min 即可，温浴结束后溶液可能呈澄清状或非澄清状。当样本为难以消化的组织或消化时有胶状物质存在时，应延长消化时间。例如样本为鼠尾时，应延长消化时间至 6-8 小时，必要时可再增加 20 μ L 蛋白酶 K 消化过夜。

3. 温浴之后，加入 500 μ L 的结合液 BS，颠倒混合均匀，此时溶液应该呈澄清状。室温静置 3-5min。

注意：此时溶液中若有可见沉淀（无法被消化的结缔、软骨等组织），请于 3,000 rpm 离心 1 min，将上清溶液按步骤 4 继续进行，弃沉淀。

4. 将 DNA 吸附柱置于 2-mL 收集管中，将上述溶液全部转移到 DNA 吸附柱中，13,000 rpm 离心 1 min，弃滤液。

注意：DNA 吸附柱的最大容量是 800 μ L，请勿超出最大容量。

5. 向 DNA 吸附柱中加入已用无水乙醇配制的洗涤液 WB1 500 μ L，13,000 rpm 离心 1 min，弃废液。

注意：洗涤液 WB1 在使用前需按 1:4 用无水乙醇稀释，稀释液可在室温下保存 1 周。（例如：若提取 10 次样品的 DNA，则取 1 mL 洗涤液 WB1 加入 4 mL 无水乙醇。）

6. 将 DNA 吸附柱重新放回 2-mL 收集管中，加入 700 μ L 洗涤液 WB2，13,000 rpm 离心 1 min，弃废液。

注意：初次使用前需向洗涤液 WB2 瓶中加入 84 mL 的无水乙醇，并充分震荡混匀。

7. 重复步骤 6 两次。

8. 将 DNA 吸附柱重新放回 2-mL 收集管中，13,000 rpm 空柱离心 1 min 后，置于新的 1.5-mL 无核酸酶污染的离心管中，开盖于室温静置或超净工作台风干 3-5 min，以彻底挥发残余的乙醇。

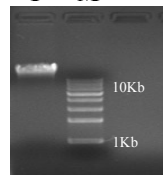
注意：残留的乙醇可能会影响后续的 PCR 等实验。

9. 向吸附柱柱膜中央上方小心加入 50-100 μ L 无核酸酶污染纯水（此步骤请谨慎操作，枪头请勿接触柱膜，纯水经 65℃ 温浴后再加入有助于提高洗脱效率），室温静置 3-5 min，13,000 rpm 离心 1 min。洗脱液即为 DNA 溶液。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于 35 μ L，体积过小影响回收效率。需长期保存 DNA 时建议用 TE 缓冲液（10mM Tris-HCl，1mM EDTA pH8.0）洗脱。

【应用实例】

1 M



使用本试剂盒从大鼠肝脏组织中提取基因组 DNA，结果见电泳图。

1: 20mg 大鼠肝脏所提取的基因组 DNA
M: 1kb Marker