

柱式细胞基因组提取试剂盒

产品货号: 28104

产品规格: 50次/100次/200次

产品简介:

本试剂盒适合于从哺乳动物细胞中提取高纯度总 DNA。本品可纯化获得分子量最大为 50 kb 的 DNA 片段, 纯化过程不需使用苯酚或氯仿等有毒溶剂, 无需乙醇沉淀。本试剂盒采用优化的缓冲体系使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上, PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤被有效去除, 最后使用低盐缓冲液或水洗脱, 即可得到高纯度 DNA。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

包装清单:

产品名称	50次包装	100次包装	200次包装	储存条件
BufferGL	10ml	20ml	40ml	RT
Buffer PS	10ml	20ml	40ml	RT
Buffer PW	9ml	18ml	36ml	RT
Buffer EB	5ml	10ml	20ml	RT
Spin Columns	50个	100个	200个	RT
Collection Tubes	50个	100个	200个	RT

自备试剂: 使用前 Buffer PW 50次加入 36ml 无水乙醇/100次加入 72ml 无水乙醇/200次加入 144ml 无水乙醇。

操作步骤: 材料处理:

1. 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液(最大提取量为 5×10^6 个细胞), 2000rpm (400×g) 离心 5 分钟, 弃尽上清, 加 200 μ l Buffer GL, 振荡至样品彻底悬浮。

如需去除 RNA, 可在上述步骤完成后, 加入 4 μ l 的浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液, 涡旋 15 秒。

2. 剧烈涡旋震荡并用移液器吹打充分混匀, 室温放置 5-10 分钟。

3. 柱平衡: 向已装入收集管(Collection Tubes)中的吸附柱(Spin Columns)中加入 200 μ l Buffer PS, 12000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

4. 将步骤 3 所得溶液短暂离心, 全部加入到已装入收集管的吸附柱(Spin Columns)中, 若一次不能加完溶液, 可分多次转入。12000 rpm 离心 1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

5. 向吸附柱中加入 450 μ l Buffer PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。

注意: 如果纯化的 DNA 用于盐敏感的实验(例如平末端连接或直接测序), 建议加入 Buffer PW 静置 2-5 分钟再离心。

6. 重复步骤 5。

7. 12000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液。

注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR 等)。8. 将吸附柱放到一个新的 1.5 ml 离心管(自备)中, 向吸附膜中间位置悬空滴加 50 μ l Buffer EB, 室温放置 2 分钟。

12000 rpm 离心 1 分钟, 收集 DNA 溶液。-20℃ 保存 DNA。

注意: 1) 洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液, 应保证其 pH 值在 7.0-8.5 之间(可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)。2) 为了提高基因组提取量, 可将离心得到的溶液重新加到吸附柱中, 室温放置 2 分钟, 12000 rpm 离心 1 分钟。3) 洗脱体积不应小于 30 μ l, 体积过少会影响回收效率。

注意事项:

1. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在 Buffer PW 中加入无水乙醇。

2. 所有离心步骤均可室温下进行。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com