

哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒

产品货号：11065

产品规格：50T/100T

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。乐业生物 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10~10 HeLa细胞可以提取到约5~50 μ g 100kb以上的基因组DNA。该试剂盒仅用于科研领域，不适用于临床诊断或其他用途。

产品组成：

试剂盒内容	50T	100T	保存条件
试剂(A): 样品裂解液	50ml	100ml	4℃
试剂(B): 蛋白酶K溶液	150 μ l	300 μ l	-20℃, 避光
试剂(C): 乙酸铵溶液	10ml	20ml	室温
试剂(D): Nuclease Free Water	10ml	20ml	室温

自备材料：

1. 组织或培养细胞
2. PBS
3. 无水乙醇、70%乙醇
4. 25:24:1 酚/氯仿/异戊醇

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~1g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。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清洗一次。4℃离心机，1000~2000g离心1~2min，弃上清。用1~10ml预冷的PBS再次悬浮离心，如此2次洗涤。
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 \times 10⁷细胞用0.5~0.6ml样品裂解液悬浮，悬浮应彻底，不应留下结块。
3. 充分混匀，50℃振荡下温育12~18h或过夜。
4. 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。
5. 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/异戊醇再抽提一次。重复该步骤1次。
6. 吸取上层液(水溶液)250~300 μ l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。
7. 4℃10000g 1min，弃上清。
8. 加入70%乙醇，4℃10000g 1min，弃上清。重复该步骤一次。



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

QQ: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

9. 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 50~100 μ l Nuclease Free Water 溶解 DNA，4 $^{\circ}$ C 或 -20 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 用摇床缓慢摇动过夜，以溶解 DNA 沉淀。
10. 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：

1. 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。
2. 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。
3. 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 > 24 h。
4. 不可过分干燥基因组 DNA 沉淀，否则会极难溶解。
5. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：6 个月有效。



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