

## Tissue Genomic DNA Kit

## 动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

目录号：DNE29

## 试剂盒组成

| Component                                | DNE29-01<br>(50 preps) | DNE29-02<br>(100 preps) |
|--|------------------------|-------------------------|
| Buffer TL                                | 12 ml                  | 25 ml                   |
| Buffer CB                                | 12 ml                  | 25 ml                   |
| Buffer WB1                               | 25 ml                  | 50 ml                   |
| Buffer WB2                               | 13 ml                  | 25 ml                   |
|  | 第一次使用前按说明加指定量无水乙醇      |                         |
| Buffer TE                                | 10 ml                  | 15 ml                   |
| Proteinase K (20 mg/ml)                  | 1 ml                   | 1 ml x 2                |
| RNase A (25 mg/ml)                       | 500 $\mu$ l            | 1 ml                    |
| Spin Columns AC with<br>Collection Tubes | 50                     | 100                     |

## 保存方法

室温（15-30°C）保存。

Proteinase K 溶解于独特的溶液体系，在常温下非常稳定，方便运输与保存，避免了反复冻融带来的产品品质下降。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

## 产品介绍

本试剂盒适合从动物组织/细胞（也可用于鼠耳、鼠肌肉、鼠内脏等）中提取总 DNA，纯化过程无需苯酚/氯仿等有机试剂。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，而其他杂质可流过膜，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度 DNA。提取总量一般在 10-20  $\mu\text{g}$ ，DNA 大小在 23 kb 左右，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。

## 标准抽提步骤

- 所有离心步骤均可在室温完成，使用普通台式离心机即可。
  - 开始试验前请将需要的水浴或金属浴预热至 56°C 备用。
  - 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！
1. 处理材料
    - a. 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液，10,000 rpm (~11,200 $\times$ g) 离心 1 min，倒尽上清，加入 180  $\mu\text{l}$  Buffer TL，振荡至彻底悬浮；
    - b. 动物组织在液氮中研磨成细粉或剪刀剪成小碎块，取 5-30 mg（脾脏组织用量应少于 10 mg，鼠尾取 0.2-0.5 cm 的尾巴尖）放入 1.5 ml 离心管，加入 180  $\mu\text{l}$  Buffer TL，振荡至彻底悬浮。  
**注意：鼠尾应尽量剪短成 1 mm 左右小段，以减少后续酶解消化时间。**
  2. 加入 20  $\mu\text{l}$  Proteinase K (20 mg/ml)，混匀，在 56°C 放置，直至组织消化溶解。  
**注意：1) 提取细胞基因组时，只需加入 Proteinase K 混匀，即可继续进行下一步。**  
**2) 不同组织裂解时间不同，通常需 1-3 h 即可完成（鼠尾需要消化过夜），不会影响后续操作。每小时颠倒混合样品 2-3 次，用水浴振荡器也可。**  
**3) 如需去除 RNA，可在完成步骤 2 后加 10  $\mu\text{l}$  RNase A(25mg/ml)溶液，振荡混匀，室温放置 5 min。**
  3. **可选步骤：**12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1 min，以除掉未消化的类似于鼠毛/骨骼等组织。将上清转移到一个新的离心管中。
  4. 加入 200  $\mu\text{l}$  Buffer CB 和 100  $\mu\text{l}$  异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀。
  5. 将上一步将得到的溶液转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns AC）中。12,000 rpm 离心 1 min，弃废液。
-

6. 向吸附柱 AC 中加入 500  $\mu$ l Buffer WB1, 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉废液。
  7. 向吸附柱 AC 中加入 600  $\mu$ l Buffer WB2 (使用前请检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉废液。
  8. 重复步骤 7。
  9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 尽量除去残留的 WB2, 弃掉收集管和废液。  
**注意:** 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会降低洗脱效率, 影响后续的酶促反应(酶切、PCR 等)。为确保下游实验不受残留乙醇的影响, 可以将吸附柱开盖放置几分钟, 以彻底晾干残余乙醇。
  10. 将吸附柱 AC 放入一个新的 1.5 ml 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100  $\mu$ l Buffer TE 或灭菌水, 室温放置 3-5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 DNA 溶液。-20°C 保存 DNA。  
**注意:** 1) Buffer TE 在 56°C 中预热可以增加产量。也可用无菌水洗脱, 但应确保其 PH 在 7.0-8.5 范围内。  
2) 如果要提高 DNA 的终浓度, 可以使用小于 100  $\mu$ l TE 洗脱, 也可以将步骤 10 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上, 再次离心洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1  $\mu$ g, 推荐用 50  $\mu$ l Buffer TE 进行洗脱。
-

---

---