

纯化效果检测:

取 2-5 μ l 得到的 DNA 产物, 0.7% agarose 电泳检测 DNA 分子的完整性和紫外分光光度计检测浓度和纯度。

DNA 在 260nm 处有吸收峰, 检测时应该使 OD₂₆₀ 值在 0.1 到 1.0 之间数值较准确。

OD₂₆₀ 为 1 时大概相当于 50 μ g/ml 双链 DNA, 40 μ g/ml 单链 DNA。

核酸浓度 (μ g/ml) = OD₂₆₀ × 50 × 稀释倍数。

OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的值应该为 1.7~2.0。

常见问题分析:

常见问题	可能原因	建议
柱子堵塞	裂解消化不充分	适当延长 Proteinase K 消化时间, 可过夜消化
	样品过多	样品量不要超过说明书所定最大量; 可适当增加 Proteinase K 的用量
DNA 产量低	将沉淀倒入柱子导致柱子堵塞	加大转速和延长离心时间
	Wash buffer A、Wash buffer B 没有加无水乙醇	按说明书加入无水乙醇
	洗脱效率低	洗脱液使用前于 55-65°C 预热; 洗脱液 pH 值不合适, 应保证在 7.5~8.5
	样品裂解不完全	适当延长裂解时间, 可过夜消化
	样品不够新鲜	尽量使用新鲜样品
DNA 纯度低	消化不完全	样品量不要超过规定范围; 延长消化时间, 使样品充分消化
	洗涤不当	严格按照说明书步骤洗脱
	乙醇未除干净	适当延长晾干时间, 使乙醇充分挥发



TEL:010-89756825

FAX:010-89756821

<http://www.dingguo.com>

Email:dgbio@dingguo.com

Toll-free:800-810-5636

动物组织/细胞/血液基因组 DNA 提取试剂盒

50 T

北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司

BEI JING DINGGUO CHANGSHENG BIOTECHNOLOGY CO.LTD

产品简介:

本试剂盒采用自主研发的独特裂解液和酶相结合的方法裂解材料,具有效率高、性能稳定、重复性高、速度快等特点。材料被裂解并、经蛋白酶 K 消化后, DNA 在高盐低 pH 的条件下,与硅基质膜特异性结合,在低盐高 pH 值条件下,吸附的 DNA 被洗脱下来。

本试剂盒适用于各种动物组织、动物细胞和血液基因组 DNA 的提取。提取的基因组 DNA 可以直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

组成:

成分	50 次	注意事项
RNase A	0.5 ml	-20℃ 保存
Proteinase K	0.5 ml	-20℃ 保存
Lysis Buffer A	35 ml	室温低时可能有白色沉淀产生,加热溶解即可
Lysis Buffer B	25 ml	
Wash buffer A	27 ml	用前加入 18 ml 无水乙醇,充分混匀
Wash buffer B	16 ml	用前加入 64 ml 无水乙醇,充分混匀
Elution Buffer	10 ml	
离心柱	50 个	单个最大吸附量 20 μg
红细胞裂解液	50ml	4℃

可选试剂

编号	品名	规格	价格
NEP033	红细胞裂解液	100 ml	40.00 元

实验前试剂准备

Wash buffer A 中加入 18 ml 无水乙醇,充分混匀。

Wash buffer B 中加入 64 ml 无水乙醇,充分混匀。

储存条件: 请按照上表中注意事项的条件保存,其他未说明的可常温或 4 度保存。

步骤:

1、样品处理

全血: 取 50-300 μl 全血,加入 3 倍体积的红细胞裂解液,震荡混匀,12000rpm 离心 1min,去上清。加入 600 μl Lysis Buffer A,震荡混匀。

禽血: 加入 10-100 μl 禽血,直接加入 600 μl Lysis Buffer A,颠倒混匀。

动物组织: 取 20-50mg 动物组织,液氮研磨或匀浆,加入 100 μl PBS 重悬样品,然后加入到准备好的 600 μl Lysis Buffer A,振荡混匀。

动物细胞: 离心收集 10^5 - 10^6 个培养细胞,加入 100 μl PBS 重悬细胞,加入 600 μl Lysis Buffer A,震荡混匀。

2、加入 10 μl Proteinase K, 60 °C 水浴 20 min~40 min, 其间颠倒混匀数次。

如需消化 RNA,可待样品裂解完全后加入 10 μl RNase A, 混匀, 室温放置 10 min。

若加入样品较多,可适当延长水浴时间,适量增加 Proteinase K 的量,按比例增加 Lysis Buffer A 和 Lysis Buffer B 量。此步骤可以过夜处理。

3、加入 400 μl Lysis Buffer B, 漩涡震荡 30 s。

4、12,000 rpm 离心 5 min, 将上清转入离心柱中, 静置 2 min。

上清可能出现少量白色漂浮物,此为未消化完全的细胞和蛋白质。

5、12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。

6、加入 700 μl Wash buffer A (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1min, 弃废液。

7、加入 700 μl Wash buffer B (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1min, 弃废液。

8、加入 500 μl Wash buffer B, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。

9、再次 12,000 rpm 离心 2 min, 将离心柱置于新的离心管中, 并打开离心柱盖, 于室温或 37 °C 恒温箱放置 5~10min, 直至无明显乙醇味。

10、在硅基质膜中央加入 50~200 μl Elution Buffer 或双蒸水(事先预热 55~65 °C), 置于室温 2 min, 12,000 rpm 离 2 min。所得液体即为基因组 DNA 溶液。