



动物组织/细胞/血液基因组DNA大提提取试剂盒

Animal Tissue / Cell / Blood Genomic DNA Kit

Catalog # ZP337

试剂盒组成	ZP337-1 5次	ZP337-2 10次
Proteinase K(20mg/mL)	1mL	2 × 1mL
Homogenate HT	30 mL	60 mL
Tissue Buffer A	30 mL	60 mL
Tissue Buffer B	30 mL	60 mL
Wash Buffer T	60 mL	120 mL
Wash Buffer W2	30 mL	2 × 30 mL
Elution Buffer TE	15 mL	30 mL
DNA Max Columns	5	10
50mL Collection Tubes	5	10
说明书	1	1

客户自备:

50 mL离心管; 无水乙醇。客户如非标准操作导致试剂耗材不足, 可单独购买各个组分。

储存条件

Proteinase K于-20°C保存。其他产品储存于室温 (15°C-25°C), 可稳定保存一年以上; 更长时间的保存可置于-2-8°C。

■ 产品简介

本产品可从大量动物组织、培养细胞和全血样本中快速提取高质量的基因组DNA。产品操作简单快速, 单个样品最快30 min即可提取完毕。特别优化的提取缓冲液很好的解决了传统基因组提取试剂盒容易堵柱的问题。提取DNA得率高, 纯度好, 可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

■ 操作步骤:

第一次使用前请先在 Wash Buffer W2 瓶中加入指定量乙醇, 加入后请及时打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

a. 动物组织

1. 取0.1-0.5g组织，用手术刀剁成尽量小的碎片，转移至50 mL离心管，加入 5 mL Homogenate HT和200 μ L Proteinase K，涡旋混匀30s。

注：脾、肝、肾等样品富含DNA，样品量可以适当减少。不同的组织和匀浆的效果决定了消化时长。液氮研磨、匀浆器处理可更为有效地裂解组织，减少消化时间。

2. 56°C水浴0.5-3h（肌肉、皮肤和鼠尾等难消化的组织，可过夜消化），期间颠倒几次混匀。待组织消解或者仅含有少量碎片，终止水浴。
3. 向离心管中加入5 mL Tissue Buffer A，涡旋混匀1 min。

b. 培养细胞

1. 在50 mL离心管中收集数量小于 5×10^7 培养细胞。

注：计算细胞数量，收集细胞

a) 悬浮培养的细胞：300 g离心5 min/13,000 rpm离心10 s，弃上清。

b) 贴壁培养的细胞：弃培养液，用胰酶消化并悬浮细胞，300g离心5 min/13,000rpm离心10s，弃上清。

2. 向细胞沉淀中加入5 mL PBS，振荡使得细胞完全悬浮，加入5 mL Tissue Buffer A和200 μ L Proteinase K，涡旋混匀30 s。
3. 56°C水浴10 min，期间颠倒几次混匀。

c. 血液

1. 向 50 mL 离心管中依次加入 5 mL 抗凝全血、200 μ L ProteinaseK、和 5 mL Tissue Buffer A，涡旋混匀 30 s。如需提取更大量，可等比例放大样品和试剂 2-3 倍，即最大可提取 15ml 血液，注意后续 Tissue Buffer B 也需等比例放大。

注：禽类、两栖类等动物的红细胞含有细胞核，需减少样品体积至 0.5 mL，然后加入 PB 补足体积至 5 mL。

2. 56°C 水浴 5 min，期间颠倒几次混匀。

纯化步骤

1. RNA清除（选做）

新鲜的样品可能会提取出微量的RNA，如果需要去除，可在此步向离心管中加入100 μ L RNase A（10 mg/mL）溶液（客户自备，目录号：ZS103），颠倒混匀后室温放置消化 5 min。

2. 向离心管中加入 5 mL Tissue Buffer B, 上下颠倒几次后涡旋混匀 / 剧烈振荡 1 min, 13,000 rpm 离心 2 min。
3. 小心吸取 10 mL 上清到 DNA Max Columns 中 (DNA Columns 放入 50 mL Collection Tubes 中), 12,000 rpm 离心 2min, 弃掉滤液。重复此步骤直至上清全部过柱。
4. 向 DNA Max Columns 加入 10 mL Wash Buffer T, 12,000 rpm 离心 30 s, 弃掉滤液。
5. 向 DNA Max Columns 加入 10mL Wash Buffer W2 (在加入前需确认是否已加入无水乙醇) 12,000rpm 离心 30 s, 弃掉滤液。重复此步骤一次。
6. 将 DNA Max Columns 放回 Collection Tubes 中, 12,000 rpm 空离心 2 min。
7. 取出 DNA Max Columns, 放入一个干净的 50mL Collection Tubes 中, 开盖静置 2 min, 在柱膜的中间部位悬空滴加 1-2mL Elution Buffer TE, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min。
8. 弃 DNA Max Columns, 洗脱的 DNA 可立即用于各种实验; 或者 -20° C 储存。

注: 洗脱体积应不少于 1 mL, 体积过少影响回收效率。为了增加 DNA 浓度, 可将离心得到的溶液再次加入吸附柱中, 室温放置 2 min 后离心洗脱。或者通过多次洗脱以增加 DNA 总的得率。然而, 增加洗脱体积会减少最终产物的浓度。DNA 产物应保存在 -20°C, 以防 DNA 降解。如果 EDTA 不影响下游实验, 强烈建议加入终度 1 mM 的 EDTA。也可使用常规的 TE8.0 缓冲液 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA pH8.0) 洗脱。

■ 注意事项

1. 使用前请检查溶液是否析出沉淀, 如有, 请置于 56°C 水浴至完全溶解再使用。
2. Wash Buffer W2 使用前按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。
3. Homogenate HT、Tissue Buffer A、Tissue Buffer B 和 Wash Buffer T 含有刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套及口罩, 避免试剂沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 需用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到 13,000rpm 的台式离心机即可。
5. 在水浴后离心管内气压大于外部气压, 需小心开盖, 否则可能会导致液体喷出。一个容易的解决方法是恢复到室温再开盖。
6. 如果需要获得更多的 DNA, 裂解体系可至多放大 1 倍 (如取 1g 组织, 加入 10 mL Homogenate HT 和 400 μ L Proteinase K)。所需的试剂需要额外购买。



■ 提取得率参考

样本	提取量	DNA得率
人全血	5 mL	100 µg
293T培养细胞	3.2×10^7	360 µg
小鼠肝	300 mg	320 µg
小鼠肾	300 mg	400 µg

ZOMANBIO