

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
堵柱子	裂解消化不充分	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 Lysis Buffer 和 Proteinase K 的量
DNA 产量低或没有	柱子堵塞	按上述方法解决
	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℃ 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

动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

100T

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：

本试剂盒适用于动物组织基因组 DNA 的提取。细胞被裂解和蛋白酶 K 消化后，DNA 被释放出来，在高盐的条件下，硅基质膜的柱子特异的吸附 DNA，在低盐高 pH 值条件下，被吸附的 DNA 被洗脱下来。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	100 次	注意事项
RNase A	2ml	-20℃ 保存
Proteinase K	1ml	-20℃ 保存
Lysis Buffer	80ml	室温低可能有沉淀，50℃ 加热溶解即可
Wash buffer A	54ml	用前加入 36ml 无水乙醇，充分混匀
Wash buffer B	16ml×2	用前加入 64ml 无水乙醇，充分混匀
TE buffer	15ml	
离心柱	100 个	单个最大吸附量 20 µg

实验前试剂准备

Wash buffer A 中加入 36ml 无水乙醇，充分混匀。

Wash buffer B 为两瓶，均为 16ml，分别加入 64ml 无水乙醇，充分混匀。

储存条件：

本试剂盒使用后，请按照说明书组成注意事项中条件保存，未说明一律 4℃ 保存。

步骤：

- 样品预处理
取新鲜动物组织 25-50mg（组织量不宜过多，否则容易导致裂解不完全而堵塞离心柱），组织剪碎或者切成小块，放入预冷的研钵，快速加入液氮用力的研磨或直接放入匀浆器中匀浆。对于冻存组织，同样使用预冷的研钵研磨或匀浆器快速用力的研磨或匀浆（冻存组织避免反复的冻融，以致细胞破碎，内源酶外泄影响基因组 DNA 的提取）。
- 加入 100µlPBS 到研磨好的样品中，将样品均匀悬于 PBS 中。
- 加入 600µl 的 Lysis Buffer，颠倒充分混匀。如需消化 RNA，可加入 20µl RNase A，颠倒混匀，室温放置 5 min。
- 加入 10µl Proteinase K，混匀。56℃ 水浴 45min-1h，其间颠倒混匀数次直到看到组织完全裂解，裂解完全的标准为液体变得清亮及粘稠。（此步骤可以过夜处理）
- 12,000rpm 离心 10min，将上清转入新的离心管中，加入 800µl 无水乙醇，混匀。
- 将液体转入离心柱（一次加不完，可分次转入），12,000rpm 离心 1min，弃废液。
- 加入 700µl Wash buffer A（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 30s -1min，弃废液。
- 加入 700µl Wash buffer B（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 30s -1min，弃废液。
- 加入 500µl Wash buffer B，12,000rpm 离心 30s-1min，弃废液。
- 再次 12,000rpm 离心 2min，将离心柱置于新的离心管中，并打开离心柱盖，于室温或 37℃ 恒温箱放置 5~10 min，直至无明显乙醇味。
- 在硅基质膜中央加入 50-200µl TE buffer （事先预热 55-65℃），置于室温 2-5 min，12,000 rpm 离心 30 s。
- 离心得到的溶液再次加入离心柱中，室温放置 2min，12,000rpm 离心 2min。所得的溶液为纯化后的基因组 DNA。