

动物组织 DNA 中量试剂盒说明书

产品组成

动物组织 DNA 中量试剂盒 Cat. No.	5 次样品 3103005	25 次制备 3103025
核酸纯化柱	5 套	25 套
蛋白酶 K 贮存液	1.2 ml	1.2 ml × 5
Buffer AT	15 ml	75 ml
Buffer SL	12 ml	60 ml
Buffer WA (浓缩液)	12 ml	57 ml
Buffer WB (浓缩液)	17 ml	78 ml
Buffer TE	12 ml	60 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

1. 蛋白酶 K 贮存液请于 -20°C 贮存。
2. 其他试剂与物品如果储存于室温 (15~25°C)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：
400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从≤250 mg (脾脏≤100 mg) 新鲜的或者是冷冻贮藏的人或动物组织中分离纯化多至 500 μg 总 DNA (包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA)。被溶解的动物组织经蛋白酶 K 消化后 DNA 将结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制剂则被过滤除去，DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 50 ml 离心管和移液器吸头
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式离心机 (可配离心 50 ml 离心管的转子)
5. 水浴锅、恒温培养箱和旋涡振荡器

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
- 2) 将水浴锅温度设置到 56°C 和 70°C，将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56°C。
- 3) 将恒温培养箱设置到 56°C。
- 4) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1. 用手术刀切取≤250 mg人或动物组织（脾脏少于100 mg），再用刀尖将组织剁成匀浆状，转移组织到一个50 ml离心管中。

- * 必须将组织颗粒剁成匀浆状，方能缩短组织的溶解时间。
- * 勿使用超过250 mg的组织，否则将超出蛋白酶K的消化能力，导致纯化柱堵塞等问题。
- * 如果所提取的组织中含结缔组织较多，比如皮肤、肌腱、鼠尾等，则应用手术刀刀尖将组织切成尽量小的碎屑，以缩短溶解时间。
- * 上述步骤也可用组织匀浆器进行匀浆，然后将经Buffer AT悬浮的组织匀浆液转移到一个50 ml离心管中。如果溶液体积不足2 ml，则应补加Buffer AT使匀浆液总体积至2 ml，再加入200 μ l蛋白酶K贮存液，进入步骤3的操作。

2. 加入200 μ l蛋白酶K贮存液，再加入1.8 ml 56℃预热的Buffer AT，漩涡振荡数秒使组织匀浆分散开来。

3. 56℃水浴30分钟，期间漩涡振荡数次帮助组织溶解。

- * 如果30分钟水浴后发现仍有不可溶解的组织颗粒存在，可延长水浴时间（比如过夜消化）直至组织全部溶解。注意如果过夜消化应盖紧管盖，以免长时间水浴过程中液体大量蒸发。
- * 对于皮肤、肌腱等难以溶解的组织，可将离心管放入恒温混匀器或摇床中56℃，900 rpm温育直至组织彻底溶解。
- * 如果从非常新鲜的组织中提取DNA，可能会同时获得部分RNA，但是RNA的存在并不影响PCR相关的实验，如需去除RNA，请在本步骤结束后添加5 μ l RNase A储存液（试剂盒不提供，可单独订购，Simgen Cat. No. 8001001），旋涡振荡30秒混匀，室温静置2分钟后再进入步骤4操作。

4. 加入2 ml Buffer SL，旋涡振荡约15秒混匀。将离心管置于70℃水浴15分钟。

- * 如果此步骤结束后发现有不可溶解的颗粒存在（比如昆虫的外骨骼，毛发等），则应于12000 rpm离心1分钟，吸取上清液转移到另一个50 ml离心管中，弃沉淀物，保留上清进入步骤5的操作。

5. 加入2 ml无水乙醇，温和地翻转4-6次混合均匀。

6. 将混合液倒入到核酸纯化柱中，盖上管盖，≥4500 rpm离心5分钟。

- * 注意管盖不要拧紧，应留有间隙，以免影响上清液的滤过。

7. 弃50 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到50 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入5 ml Buffer WA，盖上管盖，≥4500 rpm 离心2分钟。

- * 确认在Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

8. 弃50 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到50 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入10 ml Buffer WB，盖上管盖，≥4500 rpm 离心2分钟。

- * 确认在Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

9. 弃50 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到50 ml 离心管中，最高速离心5分钟。

- * 此步骤是为了弃尽残留的乙醇，请勿省略。

10. 弃50 ml 离心管，将核酸纯化柱置于另一个洁净的50 ml 离心管（用户自备）中，放入56℃恒温培养箱中静置10分钟。

11. 在核酸纯化柱中央加1~2 ml 56℃温育的Buffer TE，盖上管盖，56℃恒温培养箱中静置5分钟，≥4500 rpm 离心2分钟。

- * 洗脱DNA的Buffer TE 体积必须大于1 ml，否则将导致纯化柱上的膜不能被润透，从而降低DNA的回收效率。

12. 弃纯化柱，洗脱的DNA可立即用于各种分子生物学实验；或者将DNA储存于-20℃备用。