

For research use only

Version Number: 3.0

储存条件

Animal Tissue DNA Isolation Kit

For genomic DNA purification from animal tissues

试剂盒组成	DE-05011
	50 T
Buffer L1	20 mL
Buffer L2 *	20 mL
Buffer PW *	25 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease	1 mL
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

*: Buffer L2、Buffer PW 中含有刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的 DNA-Only Column、全新的 Foregene Protease 以及独特的缓冲液体系，可以在 30-50 分钟内从动物组织中提取到高质量的基因组 DNA。

离心柱中采用的 DNA-Only 硅胶膜为本公司特有新型材料，高效、专一吸附 DNA，可最大限度地去除 RNA、杂质蛋白、离子及其他有机化合物。提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。组织块只需 10-50 mg 即可得到 5-80 µg 基因组 DNA。

- ❖ 本试剂盒在常温(15-25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2-8°C。
- ❖ Foregene Protease 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ❖ 动物组织应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也会下降。
- ❖ 使用前，仔细检查 Buffer L1、Buffer L2 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ❖ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB 在使用前添加 60 mL 无水乙醇。
- ❖ 洗脱体积：Buffer EB 不应少于 100 µL，否则会影响 DNA 产量。
- ❖ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ❖ 所有离心步骤均使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ❖ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)下进行。

材料取用说明

动物组织：单次处理，10-50 mg。

动物组织基因组 DNA 提取操作步骤

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

- 称取 **10-50 mg** 新鲜或冻存的动物组织放入干净的离心管中，尽量剪碎，以便于后续酶解反应。
注意：肝脏中酶含量较高，可以将其剪碎置于预冷的研钵中，加入液氮将其研碎，迅速转移至干净的离心管中。
- 向上述离心管中加入 **400 μ L Buffer L1**，**20 μ L Foregene Protease**，涡旋混匀，放置于 **65°C** 金属浴或水浴中约 **30 min**，其间每间隔 10 min 涡旋混匀一次(或用手指用力弹击离心管底部数次)以帮助动物组织酶解。
注意：涡旋时间不宜太长，每次 2 sec 即可，长时间的剧烈涡旋会导致基因组 DNA 断裂成小片段。
- 酶解完成后，加入 **400 μ L Buffer L2**，此时会有上下分层出现，颠倒混匀至分层消失，置于 **65°C** 金属浴或水浴中 **10 min**。
- 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 **5-10 min**。
- 将上清液用移液器转移到离心柱(DNA-Only Column)中，注意尽量不要吸到沉淀。
注意：如果吸取的上清液中还有微小沉淀，可将其转移至新的离心管中再次离心后取上清，加入离心柱中。
- 12,000 rpm(~13,400 \times g) 离心 **1 min**，弃掉收集管中的废液。
- 向离心柱中加入 **500 μ L Buffer PW**，12,000 rpm(~13,400 \times g)离心 **1 min**，弃掉收集管中的废液。
- 向离心柱中加入 **700 μ L Buffer WB**，12,000 rpm(~13,400 \times g)离心 **1 min**，弃掉收集管中的废液。
- 重复步骤 8 一次。
- 将离心柱放回收集管中，12,000 rpm(~13,400 \times g)空离 **2 min**，弃掉离心柱中残余的 Buffer WB。
- 将离心柱移至新的 1.5 mL 离心管中，向膜中央悬空滴加 **100 μ L** 已于 **65°C** 预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 **5 min**，12,000 rpm(~13,400

\times g) 离心 **1 min**。再次向膜中央悬空滴加 **100 μ L** 已预热的 **Buffer EB**，12,000 rpm(~13,400 \times g) 离心 **1 min**。将两次收集的洗脱液合并。

注意：如果希望提高 DNA 的浓度，可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 min。