Genomic DNA Purification Kit说明书

Cat.No.:B0007

使用本产品前，请务必仔细阅读本说明书，以保证操作正确

产品组分

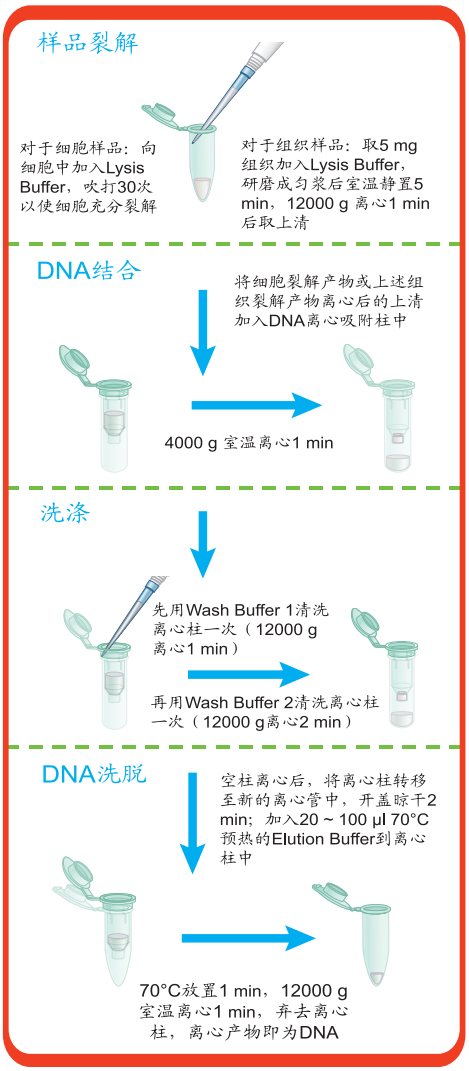
组分	B0007 (100 Preps)
Lysis Buffer	55 ml
Wash Buffer 1*[1]	24 ml
Wash Buffer 2*[1]	13 ml
Elution Buffer	10 ml
Spin Columns for DNA (with Collection Tubes)	100 Preps

注：*1. 首次使用前，请往Wash Buffer 1中加入36 ml的无水乙醇，往Wash Buffer 2中加入52 ml的无水乙醇，并充分混匀。

保存条件

本产品中的Spin Columns for DNA 需避光保存在4°C，其余所有组分保存在室温，可稳定保存12个月。过期日期详见产品标签中有效期信息。

实验流程



注意

1. 首次使用Wash Buffer 前，请往Wash Buffer 1中加入36 ml的无水乙醇，往Wash Buffer 2中加入52 ml的无水乙醇，并充分混匀（Wash Buffer 1与无水乙醇的体积比为2:3，Wash Buffer 2与无水乙醇的体积比为1:4）。

2. Elution Buffer使用前应分装为3 ~ 4份保存，以减少污染的概率。

3. Elution Buffer需提前置于水浴锅或金属浴预热至60°C。

4. DNA提取须在室温进行，提取过程中不可置于冰上。

5. DNA洗脱时，洗脱液应加在离心柱中央的膜上，不要加到侧壁上。

样品裂解

1A. 对于细胞数 ≤ 3 × 10^6的贴壁细胞样品

a) 弃去培养基，用PBS清洗细胞（沿侧壁加入PBS轻轻晃动后，再沿侧壁吸去PBS）。

b) 加入500 µl 裂解液（Lysis Buffer），用移液器反复吹打30次（吹打时，可将移液器的量程调到450 µl左右进行吹打，可以边吹边刮），使细胞充分裂解，或加入裂解液后将孔板置于摇床上室温摇5 min（120 ~ 180 rpm），然后再吹打10下以使细胞充分裂解。

1B. 对于悬浮细胞或者细胞数 ≥ 3 × 10^6的贴壁细胞样品

a)（悬浮细胞直接从下一步开始）用胰酶消化细胞，加培养基终止消化。

b) 取出约1 × 10^6 ~ 3 × 10^6细胞转移至1.5 ml离心管中，500 g离心3 ~ 5 min，弃净上清。

c) 加入500 µl裂解液，用涡旋振荡器高速震荡10 sec，以便细胞被充分裂解。

1C. 对于动物组织样品

a) 取不多于5 mg组织样品放入1.5 ml离心管中，加入500 µl裂解液，用研磨棒或电动研磨器对组织样品进行匀浆。

b) 室温静置5 min以充分释放核酸。12000 g离心1 min。

DNA结合（过柱）

2. 将细胞裂解产物或上述组织裂解产物离心后的上清（避免吸到沉淀）转移至DNA离心吸附柱（Spin Column for DNA）中，4000 g离心1 min，弃去液体。

洗涤

3. 加入500 µl Wash Buffer 1到离心柱中，12000 g离心1 min。小心地取出离心柱，倒掉废液，用吸水纸将收集管口残留的液体吸干净。

4. 加入500 µl Wash Buffer 2到离心柱中，12000 g离心2 min。倒掉废液，用吸水纸将收集管口残留的液体吸干净。

5. 将离心柱套回收集管，12000 g离心1 min以充分去除残留的废液。

6. 弃去收集管，将离心柱转移至无RNase的1.5 ml离心管中，开盖晾干2 min。

DNA洗脱

7. 向离心柱中央的膜上加入20 ~ 100 µl 60°C预热的洗脱液（Elution Buffer），60°C放置1 min。

8. 12000 g离心1 min，弃去离心柱，所得的DNA可以进行浓度测量并进行后续实验，或储存于-80°C备用。

Genomic DNA Purification Kit Trouble Shooting

1. DNA产量过低。

解决办法:

a. 检查所使用的试剂是否受到污染：可与未使用过的产品作对照，比较两组结果是否一致。建议产品开封后，每种buffer分装为3 ~ 4份（可用15 ml离心管分装），每次使用时应严格按照规范操作，防止交叉污染。

b. 溶解好的引物应该分装为小份冻存，以减少引物降解及降低污染的可能性。

c. 检查操作流程是否正确。例如:

1. 整个DNA提取的操作过程必须在室温进行，不可置于冰上（直至洗脱离心后得到DNA方可置于冰上），以避免其间产生不溶物堵塞离心柱。

2. 首次使用前，请往Wash Buffer 1中加入36 ml的无水乙醇，往Wash Buffer 2中加入52 ml的无水乙醇，并充分混匀（Wash Buffer 1与无水乙醇的体积比为2:3，Wash Buffer 2与无水乙醇的体积比为1:4）。

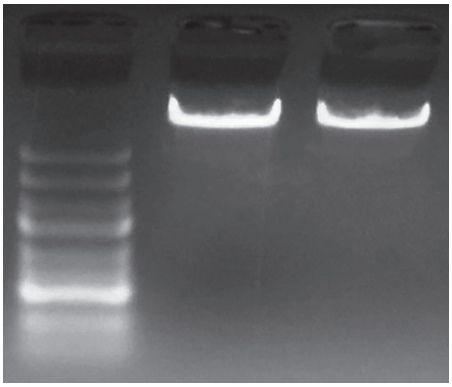
3. 细胞加入裂解液后需吹打30次或者在摇床上摇5 min再吹打10次，以使细胞充分裂解。

4. 组织样品裂解前须称重，取不大于5 mg组织，用研磨棒或电动研磨器对组织样品进行充分匀浆，室温静置5 min后以使核酸充分释放。高速离心取上清。

5. 先后用Wash Buffer 1和Wash Buffer 2洗涤；第二次洗涤时需用12000 g高速离心2 min，充分去除Wash Buffer 2，然后开盖晾干2 min。

6. 洗脱液的体积可以根据需要在一定范围内调整（一般20 ~ 100 μl，最少不可少于10 μl，否则无法充分溶解DNA），以浓度满足后续实验需求为宜。加入洗脱液后60°C加热1 min及重复洗脱一次均有利于提高回收效率。

代表性实验结果



上图：使用本产品分别提取5 mg小鼠肾脏组织（平行样），用50 μl Elution Buffer洗脱后，各取5 μl，用琼脂糖凝胶电泳检测的结果。结果显示：本产品能够在15 ~ 20 min从小鼠肾脏组织中提取足量的、片段较长的高纯度的基因组DNA。