

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

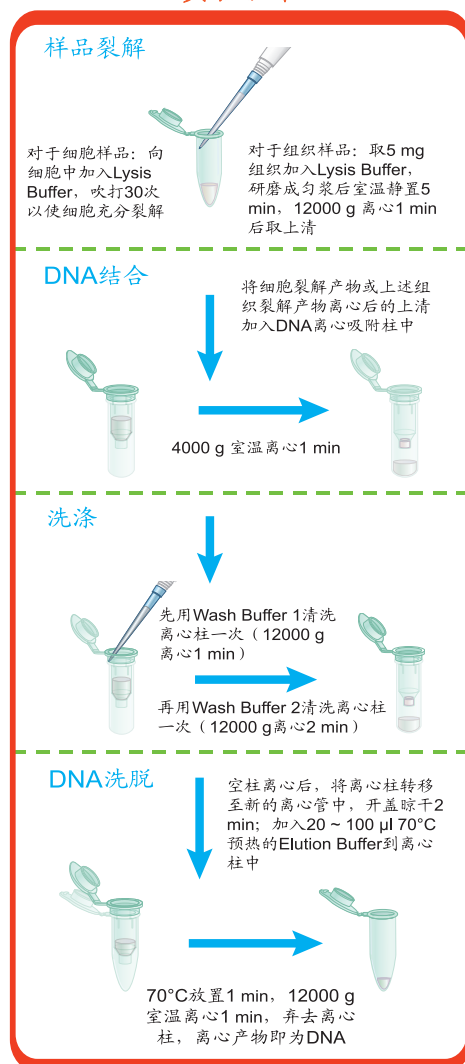
组分	B0007 (100 Preps)
Lysis Buffer	55 ml
Wash Buffer 1*1	24 ml
Wash Buffer 2*1	13 ml
Elution Buffer	10 ml
Spin Columns for DNA (with Collection Tubes)	100 Preps

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18个月。过期日期详见产品标签中有效期信息。

实验流程



注意

- 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）。
- Elution Buffer使用前应分装为3 ~ 4份保存，以减少污染的概率。
- Elution Buffer需提前置于水浴锅或金属浴预热至60°C。
- DNA提取须在室温进行，提取过程中不可置于冰上。
- 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 $\leq 3 \times 10^6$ 的贴壁细胞样品

- 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）。
- 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 $\geq 3 \times 10^6$ 的贴壁细胞样品

- （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。
- 取出约 $1 \times 10^6 \sim 3 \times 10^6$ 细胞转移至1.5 ml离心管中，500 g离心3 ~ 5 min，弃净上清。
- 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

- 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。
- 室温静置5 min以充分释放核酸。12000 g离心1 min。

DNA结合（过柱）

- 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

- 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。
- 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。
- 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。
- 弃去收集管，将离心柱转移至无酶的1.5 ml离心管中，开盖晾干2 min。

DNA洗脱

- 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。
- 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)。

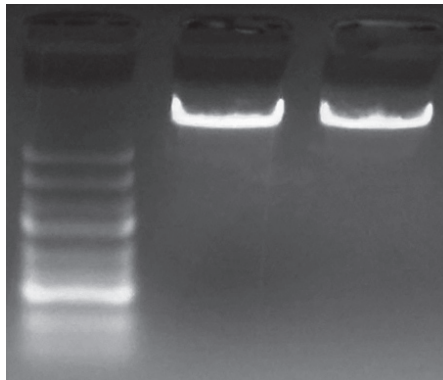
3. 细胞加入裂解液后需吹打30次或者在摇床上摇5 min再吹打10次, 以使细胞充分裂解。

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; 第二次洗涤时需使用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 μ l, 最少不可少于10 μ l, 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 μ l Elution Buffer洗脱后, 各取5 μ l, 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。