



## 胞质 DNA 提取的试剂盒

(适合从动物组织和细胞中提取基因组 DNA)

产品货号	产品名称	包装
DW3099	胞质 DNA 提取的试剂盒	50T

### 试剂盒组成:

1	Dowobio Mini Column	50
2	2 ml Collection Tube	50
3	Buffer A (Lysis solution)	2 × 30 ml
4	Buffer B (Wash solution 1)	50 ml
5	Buffer C (Wash solution 2) 使用前加入无水乙醇	50 ml
6	Buffer D (Elution solution)	15 ml

### 产品特点:

Dowobio DNA Extraction Kit 采用独特的疏水膜技术, 高效去除组织蛋白等各种干扰物, 提取高纯度的 DNA。试剂盒采用独特的缓冲系统, 可从多种不同类型动物组织和细胞中快速提取基因组 DNA。

### 保存说明:

本试剂盒在室温 (8°C) 下可保存一年。

### 注意事项:

- 实验前准备工作: 在实验开始前, 仔细阅读该手册熟悉各步骤, 并准备好所有的试剂盒组分, 1.5 ml 和 2 ml 灭菌离心管, 以及 37 °C 和 65 °C 的温浴条件。
- Buffer A 在低温时可能产生混浊或沉淀, 在 37-50°C 温浴片刻即可。
- Buffer C 第一次使用前请按瓶上标签加入 50 ml 95% 或无水乙醇。每次使用后, 请立即拧紧盖子。

### 操作步骤:

#### (一) 样品处理

##### 1. 样本处理



a. 组织匀浆：称取 100~200mg 新鲜组织如肝脏、脑、心肌等，PBS 或生理盐水冲洗，洗净血水，滤纸吸干，用剪刀剪为碎块放入小容量玻璃匀浆器内。加入 1.0 mL 预冷的 A 液，反复研磨。0°C 冰浴中上下研磨组织 20 次；有未研磨开的组织，可用双层纱布或者滤网过滤。

b. 培养细胞：消化细胞，PBS 洗涤，1000g 离心 3min 收集细胞，计数。每次提取需要  $5 \times 10^7$  个细胞，加入 1.0 mL 冰预冷的 A 液重悬细胞，4 度震荡细胞悬液 10 分钟。

c. 将组织或细胞匀浆物转移到离心管中，4°C，1000g 离心 10min。收集上清。

### (二) 吸附

2. 将上清液或裂解液转移至已平衡的吸附柱内，室温 13 000 rpm 离心 30 s，使裂解液完全流过柱子。保留柱，弃去收集管中的过滤液，将柱重新放入收集管。

**注意：1) 室温太低可能造成 Buffer A 混浊或沉淀，在 37 °C 温浴片刻即可。**

**2) 如混合液体积过大，可以分成数次上柱，每次上样量不要超过 700  $\mu$ l。**

3. (可选) 加入 30  $\mu$ l 浓度为 20-50  $\mu$ g/ml 的 RNase A 于柱的膜上，37 °C 放置 5-10 min。

**注意：本试剂盒没有配备 RNase A 溶液。一般来说，这一步没有必要，因为本试剂盒的纯化柱对 RNA 没有吸附能力。如果实验要求不能残留微量 RNA，可采用这一步处理。**

### (三) 漂洗

4. 加入 700  $\mu$ l Buffer B，室温 13 000 rpm 离心 30 s，弃去收集管中的过滤液，保留柱。

5. 加入 700  $\mu$ l Buffer C，室温 13 000 rpm 离心 30 s，弃去收集管中的过滤液，保留柱。

**注意：Buffer C 在首次使用之前必须加入 50 ml 95% 或无水乙醇，并置于室温下保存。**

6. (可选) 重复用 700  $\mu$ l 70% 乙醇 (室温) 洗涤柱子。室温 12 000 rpm 离心 1 min。

7. 弃收集管中的滤液，将空柱套回 2 ml 收集管内。室温下，最高转速或 13 000 rpm 离心 2 min 以甩干柱子基质残余的液体。

**注意：此步骤不可省，否则将导致乙醇残留于 DNA 中，影响后续反应。**

### (四) 洗脱

8. 把柱子装在一个新的 1.5 ml 离心管上，加入 50  $\mu$ l 的 Buffer D (可用灭菌的 TE 10 mM Tris-HCl, pH 8.0 或纯水代替，纯水可预先用 NaOH 调 pH 值至 8.0)，65 °C 放置 2-5 min，13 000 rpm 离心 1 min 以洗脱 DNA。

**(也可以将 Buffer D 预热至 65°C，再加至膜上，可以减少放置时间至 1min)**

**注意：小心加 Buffer D 到柱中吸附膜的中间部位，并确保液体将膜全部覆盖。**

9. DNA 可保存于 4 °C，若长时间保存，可冻存于 -20 °C

### 本产品 在文章中的写法：

英文：Dowobio (Shanghai, China)

中文：上海多沃生物科技有限公司 Dowobio, 上海