

细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒（离心柱型）

编号	包装	价格(元)
GK0121	50 次	390
GK0122	100 次	700
GK0120	20 次	190
GK0221	50 次	310
GK0222	100 次	560

试剂盒组分

Components	GK0121	GK0122	GK0120
GenClean Column	50	100	20
2-ml Collection Tube	50	100	20
ACL Solution*	25mL	50mL	10mL
AB Solution	20mL	40mL	8mL
Ext Solution	20mL	40mL	8mL
Proteinase K	500ul	1mL	200ul
Wash Solution	12mL	24mL	12mL
Elution Buffer	10mL	20mL	10mL

注:

1. GK0221/GK0222 不含 Proteinase K, 其余成分与 GK0121/GK0122 完全相同。
2. Proteinase K 浓度: 20mg/ml

注意事项:

1. 若 ACL 等出现沉淀, 请于 55℃ 加热溶解, 待恢复至室温混匀后使用;
2. 洗脱结合于 DNA 制备膜上的基因组 DNA 时, 把 Elution Buffer 或灭菌蒸馏水加热至 55℃ 使用, 将会提高基因组 DNA 的洗脱效率。

运输温度: 室温

保存温度: Proteinase K 于 -20℃ 保存, 其它组分于室温 (15℃ ~25℃) 保存。各成分均可以稳定存放 1 年而使用活性无明显衰减。室温过高或需要更长期保存, 请放置于 2~8℃。

安全说明

ACL Solution 和 AB Solution 中含有氢氧化钠、盐酸胍等刺激性成分, 实验过程中应穿上实验服, 戴好乳胶手套, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服, 防止吸入口鼻。沾染皮肤或眼睛后, 请立即用清水或生理盐水冲洗, 必要时寻求医生的帮助。

应用范围:

本试剂盒适用于各种动物组织材料 (如肝脏, 肌肉和鼠尾等) 以及细胞基因组 DNA 的提取, 提取分离获得的基因组 DNA 纯度与质量较高, 可以很好的用于后续分子生物学实验。

基本原理:

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心吸附柱和独特的裂解液缓冲液系统, 提取动物组织材料以及细胞中的基因组 DNA。离心柱内装有一层惰性大分子材料, 它可以选择性吸附核酸物质, 但不吸附蛋白质, 多醣和其它非核酸类物质。本试剂盒中的 ACL Solution 能高效裂解各种动物组织及细胞并释放基因组 DNA, 经蛋白酶消化蛋白, Ext Solution 除去脂质以及多糖等杂质, 再通过吸附膜吸附 DNA 以及漂洗液清洗后, 能最大限度的去除各种杂质, 从而获得片段大、纯度高、质量稳定可靠的基因组 DNA。

主要特点:

1. 适用范围广, 适用于各种动物组织材料基因组 DNA 的抽提。
2. 采用独特的相分离技术去除蛋白, 整个 DNA 提取过程高效、快速、方便。整个纯化过程约需 60min。
3. 无需酚和氯仿抽提, 无须乙醇沉淀。
4. DNA 纯度好, 得率高, 无蛋白质和 RNA 污染。

质量控制:

本产品生产过程中经严格质量控制, 每批产品基本成份经严格测试, 成品经抽样检测, 所有指标均满足产品质量体系要求。

主要技术指标

最适处理样品量：

本试剂盒可从不超过20mg的动物组织材料或 1×10^6 - 10^7 培养细胞提取到超纯基因组DNA（OD₂₆₀/OD₂₈₀=1.7-1.9）。

吸附柱体积：

吸附柱的最大适用溶液体积是800ul，但实际操作中通常将加入体积控制在700ul以下，因为溶液过多会溢出污染离心机。

洗脱体积：

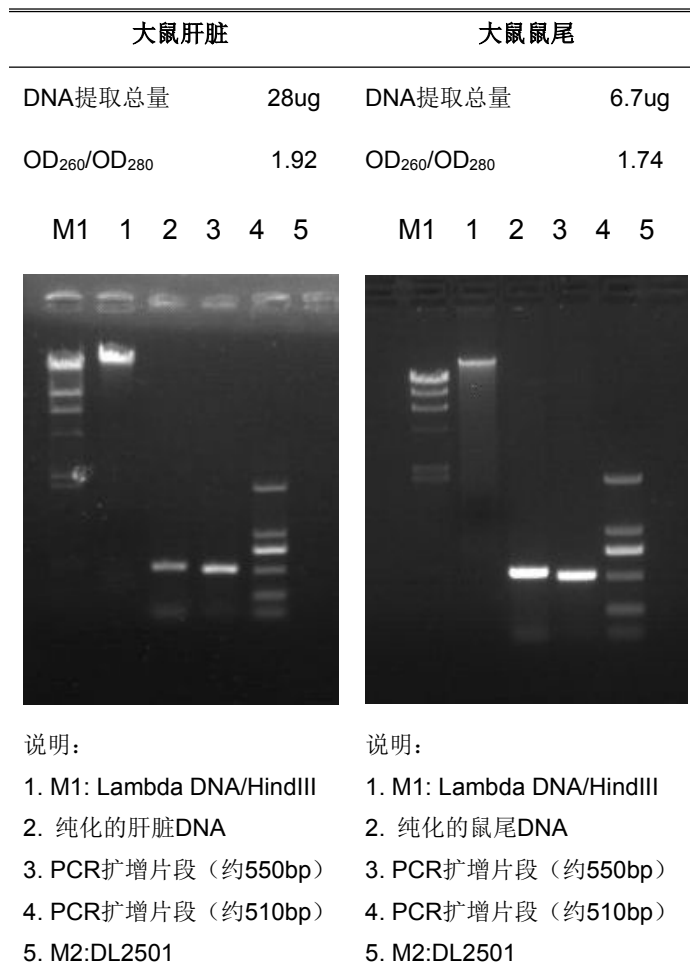
30ul是吸附柱的最小浸润体积，小于30ul的洗脱液不能完全浸润吸附膜而导致洗脱效率明显下降，因此一般建议至少用30ul洗脱。对于容易处理并且含DNA较多的动物组织样品，如肝脏，可以用多至100ul的Elution Buffer洗脱。

吸附柱最大容量：

本试剂盒中吸附柱的最大吸附 DNA 量为 40ug。然而吸附柱的最大容量不代表一定能够提取的 DNA 量，实际提取的 DNA 量与多种因素有关，包括样品的处理难易程度、样品的新鲜程度以及样品所含 DNA 量等。

使用实例

以 20mg 大鼠肝脏以及 1cm 大鼠鼠尾作为实验材料，使用液氮充分研磨，按照操作手册进行实验，并对提取获得的 DNA 进行 PCR 扩增，实验结果如下图所示：



常见问题分析及处理方案

基因组 DNA 得率较低	
实验材料保存不当	选择的实验材料不够新鲜，采集后的组织材料未及时处理或未低温保存，我们建议材料应尽量在-80℃保存，运输过程中亦使用干冰等。
实验材料过多	实验材料过多会导致裂解不充分，本试剂盒建议的最佳处理材料为：动物组织不超过 20mg，培养细胞为 1~10×10 ⁶ ，鼠尾为 0.7-1.2cm。
Wash Solution 未加乙醇	第一次实验前，确保在 Wash Solution 中添加一定体积的乙醇，混匀后再使用。
DNA 洗脱效率较低	洗脱液 Elution Buffer 最佳体积为 50ul-100ul，低于 30ul 会导致洗脱液浸润不完全，并且保证将 Elution Buffer 添加于膜中央。洗脱前将洗脱液 Elution Buffer 于 60℃ 预热 5min，会提高基因组 DNA 的得率。
使用水代替 Elution Buffer 洗脱 DNA	使用低 pH 值的去离子水洗脱 DNA 会降低 DNA 得率，请确保使用的去离子水 pH 值为 8.0 左右。
添加 AB Solution 后溶液较粘稠，无法顺利离心过柱	在抽提脂类与糖类含量较高的动物组织（如动物肝脏、肾等组织等）时，建议添加 AB Solution 后再添加等体积 Ext Solution，以除去脂类与糖类等粘性物质，使溶液能顺利通过硅胶膜，以提高 DNA 的吸附量。
ACL Solution 出现沉淀	低温环境下 ACL Solution 可能会出现沉淀，这会影响对实验材料的裂解效果。请在使用前将其于 55℃ 下放置 10min，使沉淀溶解完全后摇匀使用。
动物组织裂解不充分	将组织材料剪切成小块，利于在液氮中进行充分研磨。若裂解后溶液不澄清，则可延长裂解时间（过夜裂解）或将 proteinase K 的添加量增加至 10ul。
培养细胞裂解不充分	建议选择处于对数生长期的培养细胞。
DNA 的 OD260/OD280 比值较低	
使用去离子水作为溶液进行测定	应使用 10mM Tris-HCl pH 7.5 对样品进行稀释后再测定。
DNA 的 OD260/OD280 比值较高	
大量 RNA 残留	没有使用 RNase A 或 RNase A 活性下降。可根据实际需要，在裂解阶段适当添加 RNase A（目录号 AE866）。
DNA 影响后续分子实验	
盐浓度较高	添加 Wash Solution 后建议于室温下放置 5min，利于将盐成分清除干净。
较多乙醇残留	在使用 Wash Solution 漂洗两次之后，必须再将离心柱于离心机上 12000rpm 离心 1min，再于室温开盖放置 10min，以保证除尽残存的乙醇。
添加过多 DNA	对于 PCR 反应来说，添加 100ng 的 DNA 已经足够进行 35 个循环的 PCR 反应。
DNA 链断裂或 DNA 降解	
实验材料反复冻融	避免反复冻融实验材料。
实验材料老化或不够新鲜	选择的实验材料不够新鲜，采集后的组织材料未及时处理或未低温保存均会造成 DNA 降解。建议材料应尽量在-80℃保存，运输过程中亦使用干冰等。
DNA 酶残留	材料本身有残留的 DNA 酶活性，可适当延长蛋白酶 K 于 65℃ 温育的时间。或未能有效抑制内源核酸酶作用，某些 DNase 含量较丰富的组织样品应在液氮中研磨匀浆，研磨过程中应随时补充液氮，并在样品未完全解冻前加入含有抑制核酸酶作用的螯合剂的裂解液。