

常见问题

1. 柱子堵塞

- 样品用量太多: 减少样品用量。富含核酸的样品如肝脏、脾脏、肺脏等样品, 组织用量不要超过10 mg。
- 样品消化不充分: 用液氮或玻璃匀浆器对样品进行研磨和匀浆, 提高样品的消化效果。延长Proteinase K 消化时间或过夜消化。
- 样品裂解不充分: 样品与Buffer DL 混匀不充分。重新提取, 加入Buffer DL 后先颠倒混匀3~5次, 然后以最高速度涡旋让样品与Buffer DL 充分混匀。
- 消化液存在不溶解的物质: 若样品消化后仍存在明显的颗粒, 于12,000 x g 离心3分钟去除未消化的物质。

2. DNA 产量低

- 样品中 DNA 含量低: 增加样品的用量。
- 样品消化不充分: 延长消化时间让样品充分消化, 用玻璃匀浆器对样品进行匀浆。
- Buffer AW1 和 Buffer AW2 中乙醇没有加入或加入量不够: 按瓶子标签所示, 加入正确的乙醇。
- 加入乙醇后有沉淀析出时, 用移液枪吸打几次打散沉淀有利于提高产量。
- 洗脱不充分: 洗脱液需加到膜中央, 增加洗脱体积或次数。

3. DNA 纯度不达标

- 样品裂解不充分: 样品与Buffer DL 混匀不充分。重新提取, 加入Buffer DL 后先颠倒混匀3~5次, 然后以最高速度涡旋让样品与Buffer DL 充分混匀。
- 样品用量太多: 减少样品用量。
- 复杂样品: 对于一些富含代谢物质的组织, 样品经Buffer ATL/Proteinase K 消化后, 用等倍体积的酚氯仿抽提后, 再继续操作。

4. RNA 污染

- 样品富含 RNA: 肝脏、肾脏富含 RNA, 延长 RNase 消化时间至 60 分钟。



EasySC DNA Purification Kit from animal tissue 动物组织 DNA 提取试剂盒

(离心柱型)

产品概述

EasySC DNA Purification Kit from animal tissue采用酶裂解法裂解动物组织样本, 适用于从动物组织样本中提取基因组DNA。离心吸附柱采用的硅基质材料可特异性吸附DNA, 最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大, 纯度高, 质量稳定可靠。纯化得到的DNA可直接用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

产品特点

- ❖ 重复性好 - 适合于从不同类型的组织样品中提取高产量 DNA;
- ❖ 高纯度 DNA - 用于敏感的下游应用, 如多重及定量 PCR;
- ❖ 快速 - 简化的流程, 可在 20 分钟内完成数个样品的提取工作(消化后);
- ❖ 安全 - 无需酚氯仿抽提, 无需醇类沉淀。

适用范围

从动物组织/培养细胞中提取总 DNA。

ABP Biosciences Inc

安迪福诺生物科技(武汉)有限公司

地址: 武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼

电话: 400-066-7718 邮箱: info@abpbio.com

网址: www.abpbio.com www.abpbio.com.cn



试剂盒组分

Kit Component	D113-1 (50 preps)	D113-2 (200 preps)
Buffer ATL	15 mL	60 mL
Buffer DL	15 mL	60 mL
Buffer AW1*	15 mL	60 mL
Buffer AW2*	15 mL	50 mL
Buffer AE	15 mL	50 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	1.1 mL	4.4 mL
Mini Column	50	200
2 mL Collection Tube	50	200

* Buffer AW1, Buffer AW2 使用前须按瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

保存条件

本试剂盒除 Proteinase K 外, 可在室温保存 12 个月。Proteinase K 室温运输, 收到试剂盒后请保存于 -20°C。Buffer ATL 和 Buffer DL 放置时可能会有沉淀出来, 使用时须加热至 55°C 使沉淀消失。

实验准备

在使用之前, 请仔细阅读本说明书, 以便熟悉每一步的操作。

- 按瓶子标签所示, 加入适量的无水乙醇至 Buffer AW1, Buffer AW2 中, 于室温保存。
- 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
- 准备 10 mg/mL 的 RNase A。
- 所有离心均在室温下进行。

实验步骤

- 取约 25 mg 组织(或 <10 mg 肝脏、肺或脾脏)剪成尽量小的碎片, 转移至 1.5 mL 离心管中。加入 230 μ L Buffer ATL 和 20 μ L Proteinase K, 涡旋混匀。55°C 温浴 1~3 小时或过夜, 期间需颠倒混匀几次或振荡温浴。

Note: 正确的组织量才能获得理想结果。过多的样品会降低产量和纯度。脾脏、肝脏、肾脏等样品富含 DNA, 不要超过 10 mg。肌肉和皮肤样品可达 30 mg。把组织

块尽量剪切成小碎片可缩短消化时间。液氮研磨, 机械匀浆器, 玻璃匀浆器, 珠磨机处理组织样品可达到缩短消化时间的目的。消化时间取决于样品的类型和匀浆效果。一般组织样品需 0.5~3 小时, 老鼠尾巴需 6~8 小时。过夜消化没有负面影响。处理 DNA 含量低的组织, 可扩大组织至 25~50 mg, 按比例增加 Buffer ATL, Buffer DL 和无水乙醇的用量, 在第 6 步分次上柱。

- (可选) 如果需要去除 RNA, 可加入 20 μ L RNase A (10 mg/mL) 溶液 (客户自备), 颠倒混匀, 室温或 37°C 放置 15~60 分钟。
Note: RNA 消化时间取决于样品类型。肝脏和肾脏富含 RNA, 需较长的消化时间。
- (可选) 12,000 x g 离心 3 分钟, 转移上清液至新的 1.5 mL 离心管中。
Note: 若消化液比较浑浊或存在明显的颗粒, 不要省略此步。
- 加入 250 μ L Buffer DL 至消化液中, 最高速度涡旋 20 秒。70°C 水浴 10 分钟。
- 加入 250 μ L 无水乙醇至消化液中, 涡旋混匀 15~20 秒。
Note: 处理肝脏或脾脏等组织时, 加入乙醇时会有沉淀形成, 属正常现象。用移液枪吸打 5~10 次打散沉淀。
- 把 DNA Mini Column 装在 2 mL 收集管中。转移第五步获得的混合液 (包括沉淀) 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
Note: 若柱子出现堵塞, 14,000 x g 离心 3~5 分钟。若混合液超过 750 μ L, 分次过柱。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW1 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW2 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 600 μ L Buffer AW2 至柱子中。12,000 x g 离心 1 分钟。
- 倒弃滤液, 把柱子套回收集管中。12,000 x g 离心 3 分钟。
- 将柱子装在新的 1.5 mL 离心管中。加入 30~100 μ L 预热至 70°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
- (可选) 再加入 30~100 μ L 预热至 70°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟, 12,000 x g 离心 1 分钟。
- 弃去柱子, 把 DNA 保存于 -20°C。