



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

## 哺乳动物基因组 DNA 抽提试剂盒

### 简介:

用分子生物学技术研究复杂的基因组, 首先要求制备纯净的高分子质量 DNA, 一般分为两个步骤, 先裂解细胞、溶解 DNA, 接着采用酶学或化学方法去除蛋白、RNA 以及其他大分子。

源叶生物 哺乳动物基因组 DNA 抽提试剂盒(Mammalian genomic DNA extraction kit)采用经典的蛋白酶 K 处理法, 可以抽提到 100~150kb 以上的基因组 DNA, 提取的基因组 DNA 可用于 Southern 杂交、基因组 DNA 的 PCR 扩增及基因组 DNA 文库的构建等。该试剂盒的提取效率大致为: 从 1g 组织可以提取到约 150~200 $\mu$ g 100kb 以上的基因组 DNA, 从  $10^6 \sim 10^7$  Hela 细胞可以提取到约 5~50 $\mu$ g 100kb 以上的基因组 DNA。该试剂仅用于科研领域, 不适用于临床诊断或其他用途。

### 组成:

名称 \ 编号	R21039 50T	Storage
试剂(A): 样品裂解液	50ml	4°C
试剂(B): 蛋白酶 K 溶液	500 $\mu$ l	-20°C 避光
试剂(C): 乙酸铵溶液	10ml	RT
试剂(D): Nuclease Free Water	10ml	RT
使用说明书	1 份	

### 自备材料:

- 1、组织或培养细胞
- 2、PBS、无水乙醇、70%乙醇、25:24:1 酚/氯仿/异戊醇
- 3、离心机、研钵、剪刀、恒温箱、EP 管



## 操作步骤(仅供参考):

1、准备样品: ①组织样本: 切下组织并立即剪成小块, 置于液氮中冻结, 将 100mg 冻结的组织用预冷的研钵和研杵研碎或用锤子将其捣成碎末; ②培养细胞: 收集贴壁生长或悬浮生长细胞培养液, 贴壁生长细胞需先用胰蛋白酶消化液消化, 再用 PBS 清洗 1 次。4℃离心机, 1500rpm 离心 1~2min, 弃上清, 用 1~2ml 预冷的 PBS 再次悬浮离心, 如此 2 洗涤次。

2、每 1ml 样品裂解液加入 5μl 的蛋白酶 K 溶液, 混匀。每 50mg 组织或  $5 \times 10^7$  细胞用 0.45~0.55ml 样品裂解液悬浮, 悬浮应彻底, 不应留下结块。

3、充分混匀, 50℃振荡下温育 12~18h 或过夜。

4、加入等体积 25:24:1 酚/氯仿/异戊醇, 轻轻混合, 尽可能减少对 DNA 的剪切。

5、吸出酚相及中间相(可以吸除少量靠近中间相的水相液体), 剩余的水相用等体积酚/氯仿/异戊醇再抽提 1 次; 重复该步骤 1 次。

6、吸取上层液(水溶液)250~300μl 至新 EP 管中, 加入等体积无水乙醇和 1/4 体积的乙酸铵溶液, 颠倒混匀数次。4℃ 10000rpm 离心 1min, 弃上清。

7、向沉淀中加入 70%乙醇, 4℃ 10000rpm 离心 1min, 弃上清。重复该步骤一次。

8、尽量吸除残余的乙醇, 空气干燥, 等到不到明显液体时, 立即加入 50~100μl Nuclease Free Water 溶解 DNA, 4℃或-20℃保存。注意: 不可过分干燥基因组 DNA 沉淀, 否则会极难溶解; 如果发现 DNA 沉淀难以溶解, 可以在 4℃用摇床缓慢摇动过夜, 以溶解 DNA 沉淀。

9、A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> 处检测 DNA 纯度, 高纯度的 DNA 一般 A<sub>260</sub>/A<sub>280</sub> > 1.8。

## 注意事项:

1、如果打算提取大片段的基因组 DNA, 应尽量避免基因组 DNA 的物理性剪切。例如避免剧烈振荡含有基因组 DNA 的样品, 可以用剪掉枪头尖的枪头吸取基因组 DNA 的样品。

2、准备细胞样品时, 如果细胞量过少(<  $3 \times 10^7$ ), 应 0.3ml 含蛋白酶 K 的



上海源叶生物科技有限公司  
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd  
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248  
网址: [www.shyuanye.com](http://www.shyuanye.com)  
邮箱: [shyysw@sina.com](mailto:shyysw@sina.com)

---

样品裂解液。

3、为避免高分子质量 DNA 被剪切，可以不采用乙醇沉淀 DNA，可用透析袋替代乙醇：在 100 倍体积的 TE Buffer 中至少透析 2 次，所用取全部时间应 > 24h。

4、不可过分干燥基因组 DNA 沉淀，否则会极难溶解。

5、为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**有效期：**12 个月有效；2~8℃ 运输，-20℃ 保存。

