**动物组织/细胞DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2604**

**■ 产品简介：**

本试剂盒适用于从动物组织中提取基因组DNA。结合先进的硅基质膜技术，能够专一的结合基因组DNA，并最大限度去除动物细胞中杂蛋白及其他有机物。本产品无需乙醇沉淀，1小时内即可完成总DNA的提取，具有高效、快速、方便之特点。

**■主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2604（50次）** |
| 平衡液LB | 30 ml |
| 裂解液LA | 25 ml |
| 结合液LN | 60 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 1 ml |
| 吸附柱C1（含2 ml收集管） | 50个 |

**■保存条件**：

室温（15-25℃）

**■自备试剂**：

无水乙醇，Rnase A。

**■ 注意事项：**

（1）应尽量选用新鲜样本材料，保证DNA的完整性。

（2）第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在漂洗液PW中加入相应的无水乙醇。

（3）若下游实验对RNA污染较敏感，可在70℃水浴孵育后加入20µl浓度为10 mg/ml的RNase A溶液，Rnase A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购。

**■ 操作步骤：**

（1）称取约25mg动物组织，匀浆处理为细胞悬液，12,000 rpm离心1 min,弃上清。

（2）加入460 μl裂解液LＡ和20 μl蛋白酶K，震荡混匀，将离心管置于水浴锅中，56℃放置1-3 h，直至组织完全溶解。

**注：不同组织裂解时间不同，通常需1-3 h即可完成（鼠尾需要消化过夜）。其间颠倒混合样品数次。**

（3）将离心管置于水浴锅中，70℃保温10 min。

**注：如需去除RNA，可在上述步骤完成后，加入20 μl浓度为10 mg/ml的Rnase A溶液。室温静置几分钟。**

（4）加入2倍体积的结合液LN，充分颠倒混匀。

（5）柱平衡：向吸附柱C1中加入500 μl平衡液LB，12,000rpm离心1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱放入收集管中。

（6）将混匀的液体全部转入吸附柱C1中，12,000 rpm离心30 s，弃掉废液（吸附柱容积约为800µl左右，可分次加入离心）。

（7）向吸附柱C1中加入600 µl漂洗液PW （使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心30 s，倒掉废液，将吸附柱C1放入收集管中。

（8）重复操作步骤7。

（9）空柱12,000 rpm离心2 min。室温放置5-10 min，除去残留乙醇。

**注：漂洗液中的乙醇会影响后续酶促反映，此处应尽量晾干残留的漂洗液。**

（10）将吸附柱放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位滴加50-100 μl洗脱缓EB，室温放置1 min，12,000 rpm离心 min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20℃保存。

**注：将洗脱得到的溶液重新加入吸附柱中，重复步骤10可增加DNA得率。若后续实验对pH、EDTA敏感，需使用ddH2O做洗脱液。**