



# 细胞基因组 DNA 小量提取试剂盒

## (Cell Genomic DNA Kit)

目录号：ZP308 版本 2015-1-10

### 试剂盒内容：

试剂盒组成	ZP308-01 (20 次)	ZP308-02 (50 次)	ZP308-03 (100 次)
细胞悬浮液 T	10 ml	15 ml	30ml
裂解缓冲液 S	1 ml	1.5ml	5 ml
缓冲液 B	10 ml	15 ml	25 ml
缓冲液 C	15 ml	30 ml	60ml
漂洗液 W2	15 ml	15 ml	2×15 ml
洗脱缓冲液 TE	10 ml	15 ml	15 ml
蛋白酶 K	0.2ml	0.5ml	1 ml
吸附柱	20 个	50 个	100 个
收集管 ( 2 ml )	20 个	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份	1 份

### 选配试剂：

RNaseA ( 10mg/ml ) ( 目录号：ZS103 )

### 储存条件：

该试剂盒置于室温 ( 15-25°C ) 干燥条件下可保存 12 个月；更长时间的保存可置于 2-8°C。

### 产品简介：

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，提取多种细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可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。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

### 提取得率：

材料	提取量	DNA 得量
动物细胞培养液	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup> cells	5-20µg

### 产品特点：

**简单快速：**一小时内即可获得超纯的基因组 DNA。

**超 纯：**获得的 DNA 纯度高，可直接用于 PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

### 注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若裂解缓冲液 S 或缓冲液 B 中有沉淀，可在 65°C 水浴中重新溶解，摇匀后使用。
3. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
4. 漂洗液 W2 在使用前请按瓶上标签提示，加入适当的无水乙醇。

## 操作步骤：

### 1. 处理材料：

处理的细胞过多，会导致裂解液粘稠，进而堵塞吸附柱。5-20ul 湿细胞即可。

贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液，然后10,000 rpm (~11,200×g)离心

1 分钟，倒尽上清，加入 225μl 细胞悬浮液T，振荡至彻底悬浮；

加入 25μl 裂解缓冲液S,颠倒混匀。

**注意：如果需要去除 RNA，可加入 4 μl RNaseA ( 100 mg/ml ) 溶液 ( 客户自备，目录号：ZS103 )，振荡 15 秒，室温放置 5 分钟。**

2. 加入 10 μl 蛋白酶 K 溶液，混匀;56°C放置 20 分钟，其间颠倒混匀 1-2 次。

3. 加入 250 μl 缓冲液 B，涡旋振荡 1-2 秒充分混匀；

**注意：加入缓冲液 B 时可能会产生白色沉淀，但不会影响后续实验。**

4. 加入 250 μl 无水乙醇，涡旋振荡 10 秒，此时溶液变得透明粘稠，瞬时离心使管盖内壁的水珠回到管底部。

5. 将上一步所得溶液全部加入吸附柱中 ( 吸附柱放入收集管中 )，12,000 rpm (~13,400×g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 500 μl 缓冲液 C，12,000 rpm (~13,400×g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 700 μl 漂洗液 W2 ( 使用前请先检查是否已加入无水乙醇 )，12,000 rpm (~13,400×g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

8. 向吸附柱中加入 500 μl 漂洗液 W2，12,000 rpm (~13,400×g)离心 30 秒，倒掉废液，

9. 将吸附柱放回收集管中。然后 12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 分钟。将吸附柱置于一个新的 1.5ml 离心管中，室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 ( 酶切、PCR 等 ) 实验。**

10. 向吸附膜的中间部位悬空滴加 80-200 μl 洗脱缓冲液 TE，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。

**注意：建议洗脱缓冲液体积为 100 μl，体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 分钟。**

**洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内(可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在-20°C，以防 DNA 降解。**