



DNazol

目录号: DP3001 50ml, DP3002 100ml

储存: 室温至少一年

产品描述: DNazol 是一种完全的、可直接使用的基因组DNA 提取试剂, 简单高效, 结果可靠, 可快速提取基因组DNA, 适用于多种样品, 大量或少量样品都可使用。DNazol 可在一个步骤中裂解细胞并水解RNA, 经过乙醇沉淀后即可快速得到基因组DNA。整个过程只需10—30 分钟, DNA 回收率可达70—100%, 得到的DNA 不需再纯化, 可直接用于Southern 杂交、点杂交、分子克隆、PCR 反应和其他分子生物学应用。

注意: DNazol 有毒害性, 应避免直接接触皮肤和眼睛。

使用方法:

1. 裂解, 匀浆

- 组织。25-50mg 组织加1ml DNazol , 使用匀浆仪处理5—10 次。少量(5—10mg) 柔软组织, 如脾或脑组织, 可切成或者捣成小块使用微量取样器吹打混匀, 室温放置5—10 分钟。
- 细胞。单层培养的细胞应直接裂解, 倒出培养基, 加入DNazol 用取样器吹打几次混匀。每10cm² 细胞培养板加0.75—1.0ml DNazol。
- 细胞沉淀或悬浮液: 每1-3×10⁷ 细胞(体积小于0.1ml) 加1ml DNazol, 反复吹打混匀。以上均要使用大口径枪头吹打, 以免过度剪切断基因组。

2. 离心

4—25℃, 10000g 离心10 分钟。将得到的上清转入新管。

此步骤去除组织碎片、部分水解的RNA 和多糖。如果所提样品为肝、肌肉和大部分植物组织等含较多细胞和细胞外物质的样品, 或要提取不含RNA 的DNA 时, 可加此步骤。其他样品可省略此步。

3. 沉淀

每使用1ml DNazol 加0.5ml 100%乙醇, 颠倒离心管5—8 次, 混匀样品至出现DNA沉淀, 室温放置1—3分钟。可以看见DNA 絮状沉淀, 让沉淀自然沉降到管底, 尽可能吸弃上清用枪头搅绕DNA贴附在离心管上端壁上, 仔细吸弃剩下的管底和管壁的上清。如果因为剪切太厉害导致DNA成了小片段或者量少的DNA(少于15ug)无法缠绕到枪头上, 可在4—25℃, 4000g 离心1—2分钟沉淀DNA, 弃上清。

4. 漂洗

用0.8-1ml 75%乙醇漂洗DNA 两次。漂洗时, 将DNA 悬浮在乙醇中, 颠倒离心管3—

6 次，然后静置0.5—1 分钟使DNA 沉降到管底，尽可能吸弃上清。

如果需要，可在4—25℃，1000g 离心1—2 分钟沉淀DNA。从组织中提取DNA 时，如需去除其他内含物，第一次漂洗可用70%DNazol 和30%乙醇的溶液代替75%乙醇。

5. 溶解

用枪吸去残余的乙醇，晾干几秒中后立刻用8mMNaOH溶解DNA（如果DNA暴露于空气几秒钟都会大大加大溶解难度，因此乙醇晾后立刻溶解）。可将沉淀吸到大口径枪头中缓慢通过数次来帮助溶解。TE缓冲液和水溶解效果不完全，因此建议用碱溶液，可更快速且彻底的溶解。通常，从 10^7 细胞或10—20mg 动物组织中提取的DNA 可用0.2—0.3ml 8mM NaOH溶解，使DNA 浓度约为0.2—0.3ug/ul。

如果从植物，肝脏，肌肉等富含糖原的材料提取DNA，最后可能会有一些残留物（多糖）无法溶解，可以用12, 000Xg离心10分钟去除。

8mM NaOH容易被空气氧化，应该每月一次用不超过6个月的2—4mol的NaOH储存液配制。

结果检测：

以8mM NaOH溶液稀释DNA溶液（用DNazol提取的DNA在Tris缓冲液中溶解效果不好）在紫外分光光度计检测A260/A280，A260 为1 相当于50ug 双链DNA/ml。得到的A260/A280

应为1.6—1.9，片段大小为20—100kb。得到的DNA 片段大小取决于提取过程中机械外力对DNA 的破坏程度。