

天
净
沙
系
列

CAT#:220520-50

常温运输及保存

BINGENE

动物线粒体 DNA 纯化试剂盒 (过柱法, PCR 级)

使用手册 V1.0

江苏天净沙基因诊断技术有限公司

网址: www.bingene.com; 电话: 400-6005850; 电邮: order@bingene.com

产品及特点	动物线粒体 DNA（mtDNA）是进行分子进化研究和母性遗传研究的重要材料，但传统的两步式动物 mtDNA 提取方法需要先温和裂解动物细胞，分离线粒体，然后再从线粒体中提取 mtDNA。此方法中的温和裂解细胞的条件十分难以控制，需要针对不同组织材料单独进行优化，因此纯化效果差异很大。本方法克服了上述缺点，具有下列优点： 1. 不需要单独纯化线粒体，操作简单快捷。 2. 得到的动物 mtDNA 只能用于 PCR 分析，不能用于其它实验。 3. 可以用于培养的动物细胞，实体动物组织和血液。每 10E7 个动物细胞一般能得到 100ng 左右的 mtDNA，每克实体动物组织一般能得到 3-5 ug mtDNA。 4. 本产品不能用于纯化植物线粒体 DNA（需要另购）。 5. 本试剂盒足够 50 次微量提取。																																
规格及成分	本产品用小扁盒包装 <table><tr><th>成分</th><th>编号</th><th>规格</th><th>包装材料</th></tr><tr><td>动物线粒体 DNA 纯化溶液 A</td><td>220520a</td><td>13 mL</td><td>15mL 本色瓶</td></tr><tr><td>动物线粒体 DNA 纯化溶液 B</td><td>220520b</td><td>13 mL</td><td>15mL 本色瓶</td></tr><tr><td>动物线粒体 DNA 纯化溶液 C</td><td>220520c</td><td>18 mL</td><td>30mL 本色瓶</td></tr><tr><td>离心吸附柱</td><td>220144</td><td>50 套</td><td>塑料袋</td></tr><tr><td>通用洗柱液</td><td>220143</td><td>50 mL</td><td>60mL 本色瓶</td></tr><tr><td>DNA 洗脱液</td><td>220125</td><td>10 mL</td><td>10mL 本色瓶</td></tr><tr><td>使用手册</td><td>220520sc</td><td>1 份</td><td>无</td></tr></table>	成分	编号	规格	包装材料	动物线粒体 DNA 纯化溶液 A	220520a	13 mL	15mL 本色瓶	动物线粒体 DNA 纯化溶液 B	220520b	13 mL	15mL 本色瓶	动物线粒体 DNA 纯化溶液 C	220520c	18 mL	30mL 本色瓶	离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋	通用洗柱液	220143	50 mL	60mL 本色瓶	DNA 洗脱液	220125	10 mL	10mL 本色瓶	使用手册	220520sc	1 份	无
成分	编号	规格	包装材料																														
动物线粒体 DNA 纯化溶液 A	220520a	13 mL	15mL 本色瓶																														
动物线粒体 DNA 纯化溶液 B	220520b	13 mL	15mL 本色瓶																														
动物线粒体 DNA 纯化溶液 C	220520c	18 mL	30mL 本色瓶																														
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋																														
通用洗柱液	220143	50 mL	60mL 本色瓶																														
DNA 洗脱液	220125	10 mL	10mL 本色瓶																														
使用手册	220520sc	1 份	无																														
自备试剂	无																																
运输及保存	常温运输，短期可以在室温放置；长期保存最好放 4℃。																																
使用方法	一、培养细胞的预先处理（本试剂盒不含相关试剂） 1. 用自备的 0.25%胰酶消化液处理约 10E7 个培养的动物细胞，离心收集后弃上清，保留细胞沉淀。 2. 用 PBS 缓冲液洗涤细胞沉淀两次,最后得到的细胞沉淀将直接用作动物 mtDNA 提取的材料。 二、动物组织细胞预处理（本试剂盒不含相关试剂） 3. 用剪刀将 1g 新鲜的动物组织剪碎（芝麻大小最好），转移到 1.5mL 塑料离心																																

	管中，直接用作动物 mtDNA 提取的材料。注意：不能使用冻存的动物组织，因为冻凝过程中形成的冰晶会将线粒体膜和细胞膜刺破，其 DNA 已经释放出来，被体液中的 DNA 酶降解。 三、血液预处理 4. 将 3-5 mL 抗凝外周血静置 30 分钟或低速离心 5 分钟，取白细胞层。 5. 用自备 PBS 洗涤白细胞两次，得到的白细胞沉淀用于 mtDNA 提取。 四、mtDNA 提取 6. 在细胞沉淀或剪碎的组织中加入 250 uL 冰浴的动物线粒体 DNA 纯化溶液 A，充分吹打分散。如果是剪碎的组织，不要等成块的组织溶解即可继续下步操作。 7. 加入 250 uL 常温的动物线粒体 DNA 纯化溶液 B（如果溶液 B 有沉淀，用前须 37℃ 加热溶解后冷却到室温方可使用），轻柔反复颠倒混匀 10 次，不要剧烈振荡。 8. 冰上放置 6-8 分钟。注意不要超过 8 分钟。 9. 加入 350 uL 冰浴的动物线粒体 DNA 纯化溶液 C，轻柔颠倒混匀 6 次，可见白色沉淀物产生。冰上放置 20 分钟。 10. 室温 13000 g 离心 10 分钟，小心将上清液转移到离心吸附柱中。由于此时的溶液比重较大，有时候出现沉淀漂浮是正常现象，取上清时避开漂浮的沉淀即可。 11. 静置 5 分钟以让 DNA 与离心吸附柱充分结合，此步十分重要。 12. 室温 13000 g 离心 1 分钟，弃收集管中的废液。 13. 加入 500 uL 的通用洗柱液，室温 13000 g 离心 1 分钟，弃收集管中废液。 14. 重复上步 1 次。 15. 室温 13000 g 离心 1 分钟，甩干残留液体。此步不能省略，否则残留通用洗柱液会影响 DNA 的后续使用（如 DNA 上样时不能沉淀到加样孔中）。 16. 将离心吸附柱置于一个新的 1.5 mL 塑料离心管中，加入 50 uL DNA 洗脱液，室温放置 2 分钟。 17. 室温 13000 g 离心 1 分钟，离心管底溶液即 mtDNA。每 10E7 个动物细胞一般能得到 100ng 左右的 mtDNA，每克实体动物组织一般能得到 3-5 ug mtDNA。如果 DNA 需要浓缩，可以使用本公司的核酸浓缩剂。本试剂盒得到的 mtDNA 一般有断裂，电泳时不呈现专一的带，但不影响作为 PCR 模板。
关联产品	植物线粒体 DNA 纯化试剂盒

