天净沙系列

CAT#:221217-2

常温运输及保存

天净沙

培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提试剂盒

Culture Cells Nuclear DNA and Mitochondrial DNA Purification Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提试剂盒。它具有下列特点:

1. 一份样品可以同时得到细胞核 DNA 和线粒体 DNA，节约宝贵的实验材料。
2. 本产品基于沉淀法开发，DNA 回收率高。
3. DNA 纯净，OD260/OD280 在 1.8-2.0 之间，可直接用于 PCR、酶切、杂交等实验。
4. 所用试剂安全无毒，健康环保。
5. 本产品足够 25 次提取，每次可以处理 1E5-1E7 个细胞。
6. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品使用小扁盒包装

成分	编号	规格	包装
动物细胞溶胀液	220648a	30 mL	30 mL 本色瓶
培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提溶液 A	221217-2b	15 mL	15 mL 本色瓶
培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提溶液 B	221217-2c	2 mL	5 mL 本色瓶
培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提溶液 C	221217-2d	12 mL	15 mL 棕玻瓶
DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	15 mL	15 mL 本色瓶
使用手册	221217-2sc	1 份	无

运输及保存

常温运输，动物细胞溶胀液需 4℃保存，培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提溶液 B 需低温运输，-20℃保存，有效期一年。

自备物品

无水乙醇，75%乙醇，PBS 缓冲液，胰酶溶液。

使用方法

一、 实验前准备

1. 动物细胞溶胀液置于冰上预冷。实验中所用试剂均需先预冷。

二、细胞核粗提

2. 培养细胞: 将覆盖率为 55-65%的培养细胞用自备的胰酶溶液按标准的胰酶法处理，然后刮到 1.5 mL 塑料离心管中，4℃ 600×g 离心 3 分钟，小心弃上清。细胞数量最好在 1E5-1E7 个。细胞沉淀体积约 0.1 mL。
3. 用 1 mL 自备的预冷的 PBS 缓冲液重悬细胞沉淀并计数，转移 1E5-1E7 个细胞到离心管中，然后 4℃ 600×g 离心 3 分钟，小心弃上清。注意: 必须尽快用 PBS 缓冲液洗涤细胞沉淀，否则沉淀细胞产生的二氧化碳将使局部 pH 减低产生毒性。
4. 在细胞沉淀中加入 1 mL 动物细胞溶胀液，用手指轻柔弹管壁使细胞沉淀悬浮起

来。最好不要用枪头。

5. 冰浴 10 分钟。如果有条件可以取少量样品涂片，在显微镜下观察，90%的细胞将呈现气球状。如果没有则继续冰浴直到 90%的细胞呈现气球状。
6. 涡旋激烈震荡 10-30 秒混匀。如果有 Dounce 玻璃匀浆器，也可以用预冷的匀浆器匀浆 10-12 次。如果有条件可以取少量样品涂片，在显微镜下观察，90%的细胞将破裂。未破裂未膨胀且折光度高的是死细胞。如果死亡的细胞太多，则需要重新取样。
7. 4℃ 1000×g 离心 3 分钟，小心收集上清。沉淀为细胞核，上清为含线粒体胞浆。将细胞核沉淀放置冰上，和即将准备好的线粒体一起用于 DNA 提取，也可以放置在-20℃待用。

三、线粒体粗提

8. 将第 7 步所得上清 4℃ 1000×g 离心 30 分钟。
9. 小心移弃上清，所得沉淀为线粒体。

四、DNA 的提取（下面步骤为细胞核 DNA 提取和线粒体 DNA 提取通用）

10. 在细胞核或线粒体沉淀中加入 0.5 mL 培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提溶液 A，用移液枪吹打数次混匀后再加入 75 μL 培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提溶液 B，混匀后于 55℃温育 10 分钟。注意：溶液将成浑浊状。
11. 再加入 0.2 mL 培养细胞细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提溶液 C 充分颠倒混匀。
12. 在 4℃下 13000×g 离心 20 分钟后，将上清（含 DNA）转入一新的 1.5 mL 塑料离心管中。
13. 重复 11-12 步一次。
14. 加入两倍体积的自备无水乙醇充分震荡混匀后，室温 13000×g 离心 5 分钟，去尽上清。
15. 加入 1 mL 自备的 75%乙醇，充分混匀后室温 13000×g 离心 5 分钟，去尽上清。
16. 重复上步一次。
17. 短暂离心，去尽残留溶液（此步十分重要，不要省略）。
18. 短暂晾干半分钟，加入适量 DNA 洗脱液（基因组纯化专用）溶解 DNA[对细胞核 DNA，可加入 500 μL DNA 洗脱液（基因组纯化专用），对线粒体 DNA，可加入 50 μL DNA 洗脱液（基因组纯化专用）]。

	19. 65℃保温 15 分钟以便彻底溶解 DNA 沉淀。溶解后的 DNA 可以立即用于后续的 OD 检测、酶切、PCR 或其他实验，也可以放置在-20℃长期保存。
关联产品	人血液细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提试剂盒