

# M5 Hiper 细胞浆/细胞核 DNA 快速提取试剂盒

## 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper 细胞浆/细胞核 DNA 快速提取试剂盒	50T	MF1110-01

**【储存条件】** 室温下能稳定保存 12 个月。

### 【试剂盒组分】

试剂盒组分	体积	注意事项
平衡液	5 ml	
蛋白酶 K	1 ml	
裂解液 RLN	20 ml	
裂解液 TL	11 ml	
结合液 CB	15 ml	
去蛋白液 PE	16 ml	第一次使用前，加 10ml 无水乙醇
漂洗液 WB	13 ml	第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	10 ml	
吸附柱 AC 和收集管	50 套	

### 【产品简介】

本试剂盒采用特制的裂解液，可以选择性的裂解细胞膜，释放细胞浆 DNA，离心取上清便可以提取细胞浆 DNA。去除上清以后的留下的细胞核沉淀可以提取细胞核 DNA。从而达到分别提取细胞浆 DNA 和细胞核 DNA 的目的。

**【适用范围】** 适用于快速提取新鲜培养组织细胞的细胞浆/细胞核 DNA。

### 【产品特点】

1. 完全不使用有毒的苯酚，氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 简捷，单个样品操作一般可在 25 分钟内完成。
3. 多次柱漂洗确保高纯度，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值 1.7~1.9，PCR，酶切，Southern-blot 和各种实验。

### 【注意事项】

1. 需要使用**新鲜的细胞，组织样品**。
2. 所有的离心步骤均可在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机。
3. 需要自备乙醇，研钵(可选)。
4. 结合液 CB 和去蛋白液 PE 中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
5. 本试剂盒可以提取 50 个细胞浆 DNA 样品，或者 50 个细胞核 DNA 样品。或者 25 个细胞浆 DNA 样品+25 个细胞核 DNA 样品。

## 【操作步骤】

**温馨提示：** 第一次使用前请先在漂洗液 WB 瓶和去蛋白液 PE 瓶中按照标签加入指定量无水乙醇!

### (一)、样品处理裂解

#### 1. 培养细胞

A1. **贴壁细胞：**培养皿生长的细胞 (<3.5cm 直径) 不需胰酶消化，彻底吸干净培养液体后加 1 x PBS 漂洗一遍，彻底吸掉液体，接操作步骤 3；不方便直接裂解的培养容器，可以用细胞刮子刮下细胞，或者胰蛋白酶消化后吹打下来收集细胞到 1.5ml 离心管。

A2. **悬浮细胞：**收集 $<10^7$  悬浮细胞到一个 1.5ml 离心管。

B. 300 x g 离心 5 分钟。完全吸弃上清，留下细胞团，注意不完全弃上清会稀释裂解液导致产量纯度降低。

C. 快速拨弹 (flick) 离心管底部，使细胞沉淀松散，立刻接操作步骤 3。

#### 2. 少量组织

A. 液氮研磨+匀浆：

可以直接切 10-15 mg 组织放入研钵，加入液氮磨成粉，然后趁液氮挥发完，但尚未解冻时候加入 180  $\mu$ l Buffer RLN，用移液器吹打直到组织裂解完全，转移裂解物到新的离心管。

B. 立刻接操作步骤 4。

3. 加入 180  $\mu$ l Buffer RLN 裂解细胞。

如果是培养皿，加入 Buffer RLN 后摇晃将 Buffer RLN 覆盖所有的细胞，置冰上裂解 5 分钟，中间可轻弹摇晃一两次帮助裂解。移液器轻轻吹打帮助裂解后转入新离心管。

如果是收集的细胞沉淀，flick 管底打散沉淀后加 Buffer RLN 充分重悬细胞，置冰上裂解 5 分钟，中间可轻弹颠倒一两次帮助裂解。

4. 13,000 rpm 离心 3 分钟。转移上清 (含细胞浆 DNA) 到一个新离心管。保留沉淀 (含细胞核 DNA)。在沉淀中加入 180  $\mu$ l 裂解液 TL，振荡重悬裂解沉淀后置冰上备用。

根据细胞的种类和多少，有时候可能看不见明显的细胞核沉淀。

### (二)、细胞浆 DNA 提取

1. 样品处理裂解第 4 步得到的上清中加入 20  $\mu$ l 蛋白酶 K 溶液，充分混匀，再加入 200  $\mu$ l 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在 70° C 放置 10 min。冷却后加入 100  $\mu$ l 异丙醇 (或者无水乙醇)，振荡或者吹打混匀。

2. 立刻将混合物加入一个吸附柱 AC 中，(吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

3. 加 500  $\mu$ l 去蛋白液 PE (**请先检查是否已加入无水乙醇!**)，13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

4. 加入 600  $\mu$ l 漂洗液 WB (**请先检查是否已加入无水乙醇!**)，13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。加入 600  $\mu$ l 漂洗液 WB，重复一遍。

5. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，13,000 rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

6. 取出吸附柱 AC，放入一个干净 1.5ml 离心管中，根据预期 RNA 产量在吸附膜的中间部位加 30-50  $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB，室温放置 1 分钟，1,300 rpm 离心 1 分钟得到 DNA 溶液。

洗脱缓冲液体积不应少于 30  $\mu$ l，体积过小影响回收效率。如果需要得到更大浓度的 DNA，将离心得到的 DNA 溶液加回到吸附柱重复洗脱一遍。

### （三）、细胞核 DNA 提取

1. 样品处理裂解第 4 步得到的重悬后沉淀（已经加入了 180  $\mu$ l 裂解液 TL 重悬裂解）中加入 20  $\mu$ l 蛋白酶 K 溶液，充分振荡混匀，再加入 200  $\mu$ l 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在 70° C 放置 10 min。冷却后加入 100  $\mu$ l 异丙醇（或者无水乙醇），振荡或者吹打混匀。
2. 立刻将混合物加入一个新的吸附柱 AC 中，（吸附柱放入收集管中）13,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
3. 接操作步骤“（二）细胞浆 DNA 提取”步骤 3 开始做，完成后续的实验操作。



#### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。