

10 mg/ml Salmon DNA (约 100 ml 装) 精准配方

组分名称	理论用量	终浓度/作用	实际用量
Salmon DNA (鲑鱼精 DNA)	2 g	最终稀释至 10 mg/ml	
TE Buffer	约 200 ml	溶解 DNA, 维持稳定性	
5M NaCl 溶液	4 ml	终浓度 0.1 M, 辅助沉淀	
苯酚、苯酚/氯仿	适量	去除蛋白杂质, 纯化 DNA	
预冷乙醇	2 倍体积	DNA 乙醇沉淀, 浓缩纯化	
去离子水 (dH ₂ O)	定容至 100 ml	溶解纯化后的 DNA	

详细配制步骤:

1、**准备工作:** 提前穿戴好实验防护用品, 清理实验台, 确保实验用品干净无杂质、无核酸酶污染; 准备 500 ml 烧杯、磁力搅拌器、电子天平、离心机、17

号皮下注射针头、移液管、离心管、沸水浴锅、紫外分光光度计等实验用品，所有与 DNA 接触的器皿需提前灭菌处理，避免核酸酶降解 DNA。

2、称量与溶解：用电子天平准确称取 2 g Salmon DNA（鲑鱼精 DNA），置于干净的 500 ml 烧杯中；向烧杯中加入约 200 ml TE Buffer，放入磁力搅拌子，室温下持续搅拌 2~4 小时，直至 Salmon DNA 充分溶解，溶液呈澄清状（避免搅拌过快产生过多泡沫）。

3、NaCl 调节：向溶解后的 DNA 溶液中，缓慢加入 4 ml 5 M NaCl 溶液，边加边搅拌，确保 NaCl 均匀分散，调节溶液中 NaCl 终浓度至 0.1 M，为后续 DNA 纯化与沉淀奠定基础。

4、蛋白杂质去除：分别用苯酚和苯酚/氯仿各对 DNA 溶液进行抽提 1 次——每次加入等体积的苯酚（或苯酚/氯仿），轻轻颠倒烧杯混匀，静置分层后，收集上层水相溶液（含 DNA），丢弃下层有机相（含蛋白杂质）；该步骤可有效去除 DNA 溶液中的杂蛋白，提升 DNA 纯度。

5、DNA 断裂：将回收的水相 DNA 溶液转移至干净的容器中，用 17 号皮下注射针头快速吸打溶液约 20 次，通过机械剪切作用切断 DNA，使 DNA 片段长度适配核酸杂交需求，避免过长 DNA 影响阻断效果。

6、乙醇沉淀：向剪切后的 DNA 溶液中，加入 2 倍体积的预冷乙醇（-20℃预冷），轻轻颠倒混匀，置于-20℃冰箱中静置 30 分钟，使 DNA 充分析出沉淀；预冷乙醇可提升 DNA 沉淀效率，减少杂质共沉淀。

7、离心回收与溶解：将含有 DNA 沉淀的溶液放入离心机，8000 rpm 离心 10 分钟，弃去上清液，收集底部 DNA 沉淀；待沉淀干燥后，加入适量去离子水，将 DNA 沉淀充分溶解，随后转移至容量瓶中，用去离子水定容至 100 ml。

8、浓度测定与稀释：用紫外分光光度计测定 DNA 溶液的 OD260 值，根据公式 (DNA 浓度 mg/ml = OD260 值×50×稀释倍数/1000) 计算溶液实际 DNA 浓度；根据计算结果，用去离子水将 DNA 溶液精准稀释至 10 mg/ml，搅拌均匀后备用。

9、灭菌与分装保存：将稀释后的 10 mg/ml Salmon DNA 溶液煮沸 10 分钟，进行灭菌处理，同时使 DNA 变性；灭菌后自然冷却至室温，分装成 1 ml/份的小份，转移至无菌离心管中，密封后置于-20℃冰箱冷冻保存，避免反复冻融。

10、使用前处理：每次使用时，取出 1 份分装的 Salmon DNA 溶液，放入沸水浴中加热 5 分钟，使 DNA 彻底变性为单链；加热完成后，迅速放入冰浴中冷却，保持单链状态，即可用于核酸杂交实验的阻断步骤。



扫一扫上面的二维码图案，加我为朋友。

添加微信可免费领取试剂(包邮)

手机(同微信)：19850855600