

全血/组织/细胞基因组 DNA 快速提取试剂盒

Rapid Genomic DNA Kit

产品信息:

| 试剂盒组成 | 保存 | DL110-01 | DL110-02 |
|-------------------|----|-----------------------------|------------------------|
| | | 100 次 | 200 次 |
| RNase A (10mg/ml) | 室温 | 300 μ l \times 2 | 300 μ l \times 4 |
| 裂解液 TL | 室温 | 25ml | 50ml |
| 缓冲液 BB | 室温 | 50ml | 100ml |
| 结合液 CB | 室温 | 30ml | 60ml |
| 抑制物去除液 IR | 室温 | 50ml | 100ml |
| 漂洗液 WB | 室温 | 25ml 第一次使用前加入 100ml 无水乙醇 | 25ml \times 2 |
| 洗脱缓冲液 EB | 室温 | 15ml | 15ml \times 2 |
| 蛋白酶 K (20mg/ml) | 室温 | 1ml \times 2 | 1ml \times 4 |
| 吸附柱 AC | 室温 | 100 个 | 200 个 |
| 收集管 (2ml) | 室温 | 100 个 | 200 个 |

保存条件: 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。RNase A 建议-20 $^{\circ}$ C长期保存。

产品介绍:

独特的结合液/蛋白酶 K 迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶, 然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜,再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤,抑制物去除液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除, 最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点:

- 1.重复性好:离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜,柱与柱之间吸附量差异极小。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
- 2.提取纯度高, OD_{260}/OD_{280} 典型的比值达 1.7~1.9,可直接用于 PCR, Southern-blot 和各种酶切反应。
- 3.简单快速,一小时内即可获得超纯的基因组 DNA。
- 4.广泛:适用于血液、多种动物细胞和动物组织等。

注意事项:

- 1.结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀,可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解, **恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。
- 2.避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。
- 3.结合液 CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物,操作时要戴乳胶手套, **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。**
- 4.洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA,不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱,但应该确保 pH 大于 7.5, pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20°C。DNA 如果需要长期保存,可以用 TE 缓冲液洗脱 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0),但是 EDTA 可能影响下游酶切反应,使用时可以适当稀释。

自备试剂: 无水乙醇

操作步骤:

提示: 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇,充分混匀,加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇,以免多次加入!

1.处理材料

a. 血液

如提取材料为血液,可直接使用 220 μ l 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液,不足 220 μ l 用缓冲液 BB 补足 220 μ l,振荡混匀后,直接进行下一步骤。

注意: 如需处理更大体积血液,如 300 μ l-1ml,应按以下步骤操作:在样品中加入 3 倍体积红细胞裂解液(例如,300 μ l 血液加入 900 μ l 红细胞裂解液),颠倒混匀,室温放置 5 min,期间再颠倒混匀几次。10,000rpm 离心 1min (若离心机最高转速不允许,也可 3000rpm 离心 5min,吸去上清,留下白细胞沉淀,加 220 μ l 缓冲液 BB,振荡至彻底混匀。10 \times 红细胞裂解液(SH406-01)本公司另外有售,可根据需要来决定购买。(10 \times 红细胞裂解液使用 ddH₂O 稀释成 1 \times 使用。)

b. 禽类等血液

如果处理血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量 5-20 μ l，可加缓冲液 BB 补足 220 μ l 后进行下面的步骤。

c. 贴壁培养的细胞

贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液，然后 10,000rpm 离心 1min，弃上清，加 220 μ l 缓冲液 BB，振荡至彻底悬浮；

d. 动物组织

取 20-50mg 动物组织在液氮中研磨成细粉，或用解剖刀切成微小碎块后，转入离心管中，加入 180 μ l 裂解液 TL 后，涡旋振荡混匀。

2. 提取基因组DNA时为清除RNA，加入5 μ l RNase A (10mg/ml)，振荡混匀，室温放置 5 min。

3. 加入20 μ l蛋白酶K，振荡混匀，置于55 $^{\circ}$ C水浴中消化处理。

a. 提取血液基因组时，只需加入蛋白酶K混匀，即可继续进行下一步。

b. 提取细胞基因组时，只需加入蛋白酶K混匀，即可继续进行下一步。

c. 提取组织基因组时，加入蛋白酶K混匀后，在55 $^{\circ}$ C放置，直至组织溶解，简短离心以去除管盖内壁的水珠，再进行下一步骤。

注意：不同组织裂解时间不同，通常需1-3 h即可完成（鼠尾需要消化过夜），不会影响后续操作。每小时颠倒混合样品2-3次，用水浴振荡器也可。

4. 加入220 μ l结合液CB并充分混匀后，置于70 $^{\circ}$ C水浴10 min，等溶液变清亮，12,000rpm 短离心以去除管盖内壁的水珠。

注意：加入结合液CB时可能会产生白色沉淀，一般70 $^{\circ}$ C放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。当血液体积 \leq 200 μ l且没有采用红细胞裂解处理，或是样本储存条件不佳，水浴后颜色可能为深褐色，注意溶液中没有团块等沉淀。

5. 加入220 μ l的无水乙醇，充分振荡混匀15sec，此时可能会出现絮状沉淀，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱AC中，（吸附柱放入收集管中 12,000rpm 离心30sec，倒掉废液，将吸附柱AC放回收集管中。

7. 加入500 μ l抑制物去除剂IR，12,000rpm离心1min。倒掉收集管中的滤液。并将离心柱放回收集管中。

8. 加入500 μ l漂洗液WB，12,000rpm离心30sec。（使用前请检查是否已经加入无水乙醇）倒掉收集管中的滤液。并将离心柱放回收集管中。

9.重复步骤8的操作。

10.将吸附柱AC柱放回收集管中，12,000rpm离心2min，倒掉废液。将AC吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

11.在吸附膜的中间部位加 50-100 μ l 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65 $^{\circ}$ C水浴中预热效果更好），室温放置 2-5min，12,000 rpm 离心 1min。为了提高基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2-5min，12,000rpm 离心 1min。

注意：DNA 产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解。