

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	DL107-01	DL107-02
		100 次	100 次×2
裂解液 TL	室温	20ml	40ml
结合液 CB	室温	20ml	40ml
抑制物去除液 IR	室温	50ml	100ml
漂洗液 WB	室温	25ml	25ml×2
		第一次使用前加入 100ml 无水乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml	15ml×2
蛋白酶 K (20mg/ml)	室温	1ml×2	1ml×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。

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. 多次柱漂洗确保高纯度, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 1.7~1.9, 长度可达 30kb -50kb, 可直接用于 PCR, Southern-blot 和各种酶切反应。

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℃ 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，但应该确保批 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℃。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、1xPBS 缓冲液、RNase A（10mg/ml）（RNase A（10 mg/ml）有售）。

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！

如果需要去除 RNA，可在加蛋白酶 K 溶液前先加入 4μl RNaseA（10mg/ml）溶液（客户自备；目录号 ZF00134），振荡 15sec，室温放置 5 min

1. 组织培养细胞

- 收集约 10^5 - 10^6 悬浮细胞到一个 1.5ml 离心管；对于贴壁细胞，应该先用胰蛋白酶消化后吹打下来收集。
- 12,000rpm 离心 10 sec，使细胞沉淀下来。弃上清，留下细胞团和大约 10-20μl 残留的液体。
- 加 200μl 1×PBS 重悬洗涤细胞，12,000rpm 离心 10 sec，使细胞沉淀下来。弃上清，将细胞沉淀重悬于 180μl 1XPBS 中。
- 加入 20μl 蛋白酶 K（20mg/ml）溶液，充分混匀（可选步骤：为清除 RNA，加入 5μl RNase A（10mg/ml），振荡混匀，可选择室温放置 5min），再加入 200μl 结合液 CB，**立刻涡旋振荡充分混匀**，在 70℃放置 10 min。
- 冷却后入 200μl 无水乙醇，**立刻涡旋振荡充分混匀**，此时可能会出现絮状沉淀。
- 将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入吸附柱 AC 中，（吸附柱放入收集管中）12,000rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的废液。
- 按操作步骤 4 继续后续的实验。

2. 动植物组织（例如鼠肝脑或者植物叶片）

- 新鲜或者解冻的组织在液氮中研磨成细粉后或者用解剖刀切成小碎块（切成微块可以提高产量）后取 20-50mg，转入装有 180μl 组织裂解液 TL 的 1.5ml 离心管中，用大口径枪头吹打混匀。
- 加入 20μl 的蛋白酶 K 溶液（20mg/ml），**立刻涡旋振荡充分混匀**。
- 将裂解物放置在 55℃水浴 1-3 小时或者直到组织消化完全，期间轻柔的振荡几次帮助裂解。为清除 RNA，加入 5μl RNase A（10mg/ml），振荡混匀（可选择

室温放置 5 min)。

d. 加入 200 μ l 结合液 CB, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 70 $^{\circ}$ C 放置 10 min。

e. 冷却后加入 200 μ l 无水乙醇, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 此时可能会出现絮状沉淀。

f. 用 1ml 的枪头吸取混合物, 将混合物加入一个吸附柱 AC 中, (吸附柱放入收集管中) 12,000rpm 离心 1 min, 倒掉收集管中的废液。

g. 按**操作步骤 4**继续后续的实验。

3. 动物组织 (鼠尾)

a. 将 0.2-0.5cm 的鼠尾巴尖(即 20-50mg)剪碎 (**一定要剪 0-2cm 范围内的尾巴尖, 否则裂解效果不好**), 或者在液氮中研磨组织成细粉后, 转入装有 180 μ l 组织裂解液 TL 的 1.5ml 离心管中, 用大口径枪头吹打混匀。

b. 加入 20 μ l 的蛋白酶 K(20mg/ml), **立刻涡旋振荡充分混匀**。

c. 将裂解物放置在 55 $^{\circ}$ C 水浴 3 小时或者直到组织消化完全, 期间轻柔的振荡几次帮助裂解。为清除 RNA, 加入 5 μ l RNase A (10mg/ml), 振荡混匀 (可选择室温放置 5 min)。

d. 用一个 1ml **不带针头**的一次性输液器抽打裂解物 2-3 次。

e. 加入 200 μ l 结合液 CB 和 200 μ l 无水乙醇, **立刻涡旋振荡充分混匀**。

f. 12,000rpm 离心 5 min, 将上清加入一个吸附柱 AC 中, (吸附柱放入收集管中) 12,000rpm 离心 30-60 sec, 倒掉收集管中的废液。

g. 按**操作步骤 4**继续后续的实验。

4. 加入 500 μ l 抑制物去除液 IR, 12,000rpm 离心 30 sec, 弃废液。

5. 加入 500 μ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。

6. 重复操作步骤 5。

7. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 12,000rpm 离心 2 min, 将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, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

8. 取出吸附柱 AC, 放入一个干净的离心管中, 在**吸附膜的中间部位**加 50-100 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 3-5 min, 12,000rpm 离心 1 min。为了增加基因组 DNA 的得率, 将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置 2 min, 12,000rpm 离心 1 min。(注意: DNA 产物应保存在-20 $^{\circ}$ C, 以防 DNA 降解。)

BM190905