

# 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	DL110-01 100 次	DL110-02 100 次×2
RNase A (10mg/ml)	-20℃	300µl×2	300µl×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×2
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。RNase A 建议-20℃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<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 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℃ 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℃。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 220μl 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液，不足 220μl 用缓冲液 BB 补足 220μl，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 300μl-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，300μl 血液加入 900μl 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 220μl 缓冲液 BB，振荡至彻底混匀。10× 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× 红细胞裂解液使用 ddH<sub>2</sub>O 稀释成 1× 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 5-20μl，可加缓冲液 BB 补足 220μl 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ l RNase A (10mg/ml), 振荡混匀, 室温放置 5 min。

3.加入20 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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。

BM191220