

操作手册

组织基因组 DNA 小量提取试剂盒

Catalog No. TD325-50 (50 次反应)

TD325-200 (200 次反应)

Highlights

- 可从固体组织，头发等复杂来源的样品中提取到高纯度的基因组 DNA。
- 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、高通量测序等敏感分子生物学实验。

产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次	200 次
蛋白酶 K 及 保存液	-20℃	20 mg	4 x20 mg
固体组织消化液（蓝色）	室温	6 ml	20 ml
基因组 DNA 结合液	室温	25 ml	85 ml
基因组 DNA 洗涤液 1	室温	30 ml	2 x 50 ml
基因组 DNA 洗涤液 2	室温	50 ml	200 ml
基因组 DNA 洗脱液	室温	10 ml	50 ml
2L 柱	室温	50 个	200 个
收集管（2ml）	室温	100 个	400 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

环境温度低时基因组固体组织消化液或者基因组 DNA 洗涤液 1 可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解使用。

特性:

- **样品种类:** 固体组织，毛发，保存在保护剂里的样品等。获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR 等各种分子生物学实验。

不推荐使用此试剂盒提取小 DNA 或者游离 DNA(可使用 TD476 产品)

- **基因组 DNA 大小:** 一般可回收到大于 50 kb 的基因组 DNA。如果样品中存在线粒体 DNA，病毒 DNA 等也会一起提取到。
- **DNA 纯度:** 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR 等各种分子生物学实验。

一般情况 $Abs_{260/280} \geq 1.8$ $Abs_{260/230} \geq 2.0$ 。

- **基因组 DNA 产量:** 针对哺乳动物组织可从每 mg 的心脏，脑组织中提取到 1-3 μ g DNA。每 mg 的肝，肾，肺组织中提取到 3-5 μ g DNA。

- **需要的仪器设备:** 水浴锅或者金属浴（55℃）。微型离心机，涡旋仪。

样品来源:

固体样品:

可从≤25mg 尾巴，耳朵，器官活检（脑，肝，心脏，肾，肌肉，胃，膀胱，肠）等样品里提取到总 DNA。

- 可采用 55℃ 过夜蛋白酶 K 消化步骤。
- 针对保存在 DNA/RNA 保护剂中的固体组织。参看附录。
- 针对头发，毛发等组织。参看附录。

试剂制备:

在操作之前，需添加1060μl蛋白酶K保存液到每管蛋白酶K（20mg）中。蛋白酶K溶液的浓度为20mg/ml,混匀后，需要放到-20℃长期保存。

提取步骤:

固体组织

1. 添加≤25mg的组织到一个离心管里，并且添加：

95μl 水

95μl 固体组织消化液（蓝色）

10μl 蛋白酶K

2. 混匀或者涡旋振荡10-15秒然后在55℃下孵育1-3个小时或者直到组织溶解，进行下一步之前混匀。

注意：如果消化后的样品中仍然有不溶解的组织，需要在≥ 12,000 x g 的离心力下离心1分钟，然后将上清转移到一个干净的离心管中进行下面的操作。

3. 混匀2倍体积的基因组DNA结合液到上清中，混匀或者涡旋振荡10-15秒。

例如：添加400μl的基因组DNA结合液到200μl上清中。

4. 将上清转移至 2L 柱中，2L 柱套在一个收集管里，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。
5. 将 2L 柱套在一个新的收集管里，添加 400 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。
6. 添加 700 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。
7. 添加 200 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。
8. 将 2L 柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 $\geq 50\mu$ l 的基因组 DNA 洗脱液到柱基质上（洗脱液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好，如果是 25mg 的组织可以添加 200 μ l），室温下放置 2-5 分钟，全速离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。

附录A:

保存在 DNA/RNA 保护剂中的样品

DNA/RNA 保护剂可以在常温下稳定 DNA 和 RNA，方便样品的运输，无需冰箱或者冷链运输，并且有效裂解细胞灭活样品中的病毒。相关产品信息可与我公司联系。（TR110 或 TR120）

固体组织

1. 添加 150 μ l 的固体组织消化液（蓝色）和 10 μ l 蛋白酶 K 到每 300 μ l 含有样品的保护剂中。
2. 混匀或者涡旋 10-15 秒并在 55 $^{\circ}$ C 下孵育 1-3 小时。

注意：55 $^{\circ}$ C 下过夜操作也是可以的，并且可以增强消化的效果和 DNA 的回收量。

3. 添加 1 倍体积的基因组 DNA 结合液到消化的样品中，混匀或者涡旋 10-15 秒。
4. 从主操作步骤的第 4 步开始进行接下来的操作。

附录D：

头发，毛发等相关样品

1. 需要用到新鲜制备的 DTT(未提供)进行溶液的配制，提取 $\leq 25\text{mg}$ 的样品配置比例如下：

H ₂ O	90 μl
固体组织消化液（蓝色）	90 μl
DTT(1M)	10 μl
蛋白酶K	10 μl

2. 混匀或者涡旋 10-15 秒并在 55 $^{\circ}\text{C}$ 下孵育 1-3 小时。

注意：55 $^{\circ}\text{C}$ 下过夜操作也是可以的，并且可以增强消化的效果和 DNA 的回收量。

3. 添加400 μl 的基因组DNA结合液到消化的样品中，混匀或者涡旋振荡10-15秒。在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心1分钟沉淀不溶的物质。

4. 将混合物（上清）转移至 2L 柱中，2L 柱套在一个收集管里，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。

5. 将 2L 柱套在一个新的收集管里，添加 400 μl 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。

6. 添加 700 μl 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。

7. 添加 200 μl 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。

8. 将 2L 柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 $\geq 50\mu\text{l}$ 的基因组 DNA 洗脱液到柱基质上（洗脱液事先在 65-70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热效果更好），室温下放置 2-5 分钟，全速离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。

附录F：

保存在保存卡（纸）上的样品

将保存在 Guthrie, FTA 或其他类似的样品保存卡（纸）上的样品通过合适的穿孔器打孔，将裁切的介质添加到我公司的裂解管中（需额外购买），并且添加裂解液（需额外购买），简单涡旋匀浆后进行下述操作。

1. 添加保存卡（纸）到裂解管中，添加 400 μl 裂解液。

2. 拧紧盖子放到合适的振荡器中最大速度下震荡。

3. 在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心裂解管 1 分钟。

4. 针对裂解管里的裂解物添加以下混合物：

固体组织消化液（蓝色）	360 μ l
-------------	-------------

蛋白酶K	40 μ l
------	------------

5. 混匀并在 55 $^{\circ}$ C 下孵育 10-15 分钟。

6. 在 $\geq 10,000 \times g$ 离心力下离心裂解管 1 分钟。将 400 μ l 上清移至一个干净的离心管里。

7. 添加 800 μ l 的基因组 DNA 结合液到离心管内混匀。

8. 转移 600 μ l 上述混合物到转移至 2L 柱中，2L 柱套在一个收集管里，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。

9. 倒掉收集管中的废液并且重复步骤 8。

10. 将 2L 柱套在一个新的收集管里，添加 400 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。

11. 添加 700 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。倒掉收集管中的废液。

12. 添加 200 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2L 柱中，在 $\geq 12,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。

13. 将 2L 柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 $\geq 50\mu$ l 的基因组 DNA 洗脱液到柱基质上（洗脱液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好），室温下放置 2-5 分钟，全速离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。