

快速基因组DNA提取试剂盒（96孔板）

（使用说明书 Ver.1.1.0）

产品特点

- ◇ 可从固体组织、生物体液、细胞、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、高通量测序等敏感的分子生物学实验。

产品货号：

TD3010（2x96次反应） TD3011（4x96次反应） TD3012（10x96次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
样品来源	1
溶液制备	2
操作步骤	2
附录A	3
附录B	3
组件查询	4

产品组份

试剂盒组成	2x96	4x96	10x96	保存
基因组DNA裂解液	100ml	100mlx2	100mlx5	室温
基因组DNA洗涤液1	50ml	50ml x2	50ml x5	室温
基因组DNA洗涤液2	100ml	100ml x2	100ml x5	室温
基因组DNA洗脱液	10ml	10ml x2	50ml	室温
96孔浅孔纯化板	2块	4块	10块	室温
96孔收集纯化板	2块	4块	10块	室温
96孔 U 底洗脱纯化板	2块	4块	10块	室温
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml) (选配)				-20°C

注意事项

- ✧ 售出后一年内产品质量可以保证。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通用消化液或者基因组DNA洗涤液1可能出现析出和沉淀，可以在37°C水浴几分钟帮助重新溶解使用。

产品特性

- ✧ 样品种类：固体组织、全血、细胞、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游离DNA。
- ✧ 基因组DNA大小：一般可回收到大于50kb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≥1.8 AbS 260/230≥2.0。
- ✧ 基因组DNA产量：针对哺乳动物组织每孔可从每mg的心脏，脑组织中提取到1-3μg DNA。每mg的肝，肾，肺组织中提取到3-5μg DNA。100μl全血中回收得到3μg以上的基因组DNA。
- ✧ 需要的仪器设备：水浴锅或者金属浴（55°C）。微型离心机，涡旋仪。

样品来源

液体样品

可从≤100μl全血、有核血、血块黄层、唾液、痰、精子、乳汁等样品里提取到总DNA。

- ✧ 对于保存在DNA/RNA保护剂里的液体样品见第3页。
- ✧ 对于从血清血浆中提取病毒DNA，按照生物液体和细胞的操作流程就可以。

- ✧ 对于提取尿液中细胞的DNA，在3,000xg离心力下离心15分钟富集细胞，在提取之前去除上清，然后按照生物液体及细胞操作步骤操作。

哺乳动物或昆虫细胞培养物

可从 $\leq 5 \times 10^6$ 细胞内像HeLa细胞、HEK-293细胞、Drosophila等样品里提取到总DNA。

- ✧ 在处理细胞沉淀之前需要去除培养基。(大约在500xg离心力下离心2分钟，取决于细胞类型和体积，然后去除上清)
- ✧ 对于哺乳动物细胞，蛋白酶K的消化时间在55°C下可以减少到5分钟。
- ✧ 对于单层细胞和口腔细胞的制备和收集参看第3页。
- ✧ 对于保存在DNA/RNA保护剂中的样品。参看第3页。

固体样品

可从 $\leq 25\text{mg}$ 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°C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。
- ✧ 针对头发，毛发等组织。

溶液制备

(推荐)按照0.5%的比例在基因组DNA裂解液中添加 β -巯基乙醇，例如50ml基因组DNA裂解液中添加250 μl 的 β -巯基乙醇。

操作步骤

生物液体和细胞	固体组织
<ol style="list-style-type: none"> 1. 以下步骤是针对100μl的液体样本设计的(如果为全血样本推荐按照50μl进行操作) 2. 添加4倍体积的基因组DNA裂解液到样品中，混匀或者振荡4-6秒。室温下放置5-10分钟。 3. 将上述混合物移至96孔浅孔纯化板中，并将96孔浅孔纯化板套在一个96孔收集纯化板上，在2500-5000xg离心力下离心5分钟。 	<ol style="list-style-type: none"> 1. 针对$\leq 5\text{mg}$的组织(新鲜或者冷冻)，添加500μl的基因组DNA裂解液。 2. 在$\geq 10000\text{xg}$的离心力下离心5分钟，将上清尽可能多的转移置96孔浅孔纯化板，吸取上清的过程中确保不搅动底部的沉淀。 3. 将96孔浅孔纯化板套在一个96孔收集纯化板上，在2500-5000xg离心力下离心5分钟。
<ol style="list-style-type: none"> 4. 添加200μl的基因组DNA洗涤液1到96孔浅孔纯化板中，在2500-5000xg离心力下离心5分钟。倒掉收集板中的废液。 5. 添加300μl的基因组DNA洗涤液2到96孔浅孔纯化板中，在2500-5000xg离心力下离心5分钟。 	

- 将96孔浅孔纯化板套在一个96孔洗脱板上，直接添加 $\geq 30\mu\text{l}$ 的基因组DNA洗脱液到纯化柱基质上（洗脱液事先在65-70°C水浴中预热效果更好），室温下放置2-5分钟，在2, 500-5, 000xg离心力下离心5分钟来洗脱DNA。

附录A

单层细胞样品提取

以下步骤是针对从 1×10^6 以内的单层细胞而设计的。虽然细胞类型和培养环境不同，但此操作步骤兼容高密度和低密度的生长细胞。

用胰蛋白酶消化或者从培养板等容器中刮下贴壁细胞。在500xg下离心5分钟细胞悬液，去除上清液，用500 μl 的基因组DNA裂解液涡旋震荡4-6秒重悬细胞沉淀并且在室温下放置5-10分钟。之后按照生物液体及细胞的操作步骤3进行后续的操作。

以下表格为细胞量的参考，实际情况会根据不同的细胞类型而不同

培养容器	孔或瓶的表面积	细胞数
96孔培养板	0.32-0.6cm ²	4-5x10 ⁴
24孔培养板	2cm ²	1-3x10 ⁵
12孔培养板	4cm ²	4-5x10 ⁵
6孔培养板	9.5cm ²	0.5-1x10 ⁶
T25培养瓶	25cm ²	2-3x10 ⁶
T75培养瓶	75cm ²	0.6-1x10 ⁷
T175培养瓶	175cm ²	2-3x10 ⁷

口腔脱落细胞

提取口腔细胞可以通过漱口方式获得。

漱口提取方法：用10-20ml盐溶液或者漱口水剧烈的漱口30秒。漱的越剧烈，获得的细胞会越多。将盐溶液吐到一个50ml的离心管中，在1, 500RPM的转速下离心5分钟。去除上清，但不要影响细胞沉淀。之后按照生物液体及细胞的操作步骤3进行后续操作。

附录B

保存在DNA/RNA保护剂（EZShield®）中的样品

DNA/RNA保护剂（EZShield®）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/TR120）

1. 每400 μl 的保护剂添加20 μl 的蛋白酶K（20mg/ml），再55°C下消化30分钟。

2. 每100 μl 的保护剂添加400 μl 的基因组DNA裂解液，涡旋混匀后从液体样本的操作步骤3进行后续操作。

蛋白酶K消化后的样品

经过蛋白酶K消化后的样品在 $\geq 10,000\text{xg}$ 的速度下离心5分钟取上清并从液体操作步骤的2开始进行后续操作。

组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
基因组DNA裂解液	TD3004-1-100	100ml	室温
基因组DNA洗涤液1	TD3004-5-50	50ml	室温
基因组DNA洗涤液2	TD3004-2-100	100ml	室温
基因组DNA洗脱液	TD3004-3-10	10ml	室温
96孔浅孔纯化板	TC2001	2 块	室温
96孔收集纯化板	TC2002	2 块	室温
96孔U底洗脱纯化板	TC2003	2 块	室温
蛋白酶K溶液 (20mg/ml) (选配)	TD3001-2-0.5	500µl	-20°C
	TD3001-2-0.6	600ul	-20°C
	TD3001-2-1	1ml	-20°C
	TD3001-2-1.2	1.2ml	-20°C