

血液&细胞基因组 DNA 小量提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.3)

产品说明

- ◇ 可从全血，有核血，血块黄层，唾液，痰，精子，乳汁等样品里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。

产品货号：

TD324- 50 (50 次反应)

TD324- 200 (200 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	2
溶液制备	2
操作步骤	2
附录 A	3
附录 B	4
附录 C	4
组件查询	5

产品组份

试剂盒组成	50 次	200 次	保存
蛋白酶 K	20 mg	4 x20 mg	-20°C
蛋白酶 K 保存液	1.2ml	4*1.2ml	-20°C
液体与细胞消化液 (红)	12 ml	45 ml	室温
基因组 DNA 结合液	25 ml	85 ml	室温
基因组 DNA 洗涤液 1	30 ml	2 x 50 ml	室温
基因组 DNA 洗涤液 2	50 ml	200 ml	室温
基因组 DNA 洗脱液	10 ml	50 ml	室温
2 号 C-XLR 纯化柱	50 个	200 个	室温
2ml 收集管	100 个	400 个	室温

注意事项

- ◇ 简石生物产品仅供研究使用，应由专业人员操作。本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。
- ◇ 售出后一年内产品可质保。试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。
- ◇ 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°C 水浴几分钟帮助重新溶解使用。

产品特性

- ◇ 样品种类: 全血、有核血、血块黄层、唾液、痰、精子、乳汁等样品，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 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 $A_{260}/280 \geq 1.8$ $A_{260}/230 \geq 2.0$ 。

- ◇ 基因组 DNA 产量: 针对哺乳动物一般 100 μ l 全血中回收得到 3 μ g 以上的基因组 DNA。
- ◇ 需要的仪器设备:水浴锅或者金属浴 (55 $^{\circ}$ C) , 微型离心机, 涡旋仪。

样品来源

液体样本

可从 \leq 200 μ l 的全血、有核血、血块黄层、唾液、痰、精子、乳汁等样品里提取到总 DNA, 见附录。

- ◇ 对于保存在 DNA/RNA 保护剂里的液体样品见附录。
- ◇ 有核血液样品, 比如禽类血液, 见附录。
- ◇ 对于单层细胞和口腔细胞的制备和收集参看附录。
- ◇ 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。对于游离 DNA 的提取, 推荐使用游离 DNA 提取试剂盒 (TD476) 。
- ◇ 对于提取尿液中细胞的 DNA, 在 3,000 x g 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 10⁶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 500 x g 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 $^{\circ}$ 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附录。

溶液制备:

在操作之前, 需添加 1060 μ l 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, 需要放置-20 $^{\circ}$ C长期保存。

操作步骤:

使用基因组 DNA 洗脱液或其他等渗溶液 (如 PBS) 来重悬培养的细胞沉淀。

(\leq 1 x 10⁶ 细胞使用 100 μ l 基因组 DNA 洗脱液; 10⁶-5 x 10⁶ 细胞数使用 200 μ l 基因组 DNA 洗脱液)

55°C下的蛋白酶 K 过夜消化不会影响 DNA 的完整性。

生物液体和细胞
<p>1. 添加最多200μl的样品到一个离心管中并且添加： 200μl 液体与细胞消化液（红色） 20μl 蛋白酶K</p> <p>注意：如果样品不足200μl则需要按照比例调整液体与细胞消化液（红色），蛋白酶K及其基因组DNA结合液的用量。</p> <p>2. 混匀或者涡旋振荡10-15秒然后再55°C下孵育10分钟。</p> <p>3. 混匀1倍体积的基因组DNA结合液到消化的样品中，混匀或者涡旋振荡10-15秒。 例如：添加420μl的基因组DNA结合液到420μl消化的样品中。</p>

4.将上清转移至2号C-XLR纯化柱中，2号C-XLR纯化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2号C-XLR纯化柱套在一个新的收集管里，添加400μl的基因组DNA洗涤液1到2号C-XLR纯化柱中，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700μl的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，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200μl的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，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2号C-XLR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加 $\geq 50\mu\text{l}$ 的基因组DNA洗脱液到纯化柱基质上（洗脱液事先在 65-70°C水浴中预热效果更好，如果是25mg的组织可以添加200μl），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：

单细胞层样品提取

以下步骤是针对从 5×10^6 以内的细胞单层而设计的。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 $500 \times g$ 下离心 5 分钟细胞悬液，去除上清液，用 1ml 的 PBS 重悬细胞沉淀并将细胞悬液移至一个离心管中。在 $500 \times g$ 下离心 5 分钟细胞悬液，去除上清液，之后按照生物液体及细胞的操作步骤进行操作。

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	0.32-0.6 cm ²	4-5x10 ⁴
24孔培养板	2 cm ²	1-3x10 ⁵
12孔培养板	4 cm ²	4-5x10 ⁵
6孔培养板	9.5 cm ²	0.5-1x10 ⁶
T25培养瓶	25 cm ²	2-3x10 ⁶
T75培养瓶	75 cm ²	0.6-1x10 ⁷
T175培养瓶	175 cm ²	2-3x10 ⁷

口腔脱落细胞及其拭子

提取口腔细胞可以通过漱口或者口腔拭子等方式

- A. 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进行操作。
- B. 口腔拭子提取方法：在收集细胞之前用清水漱口。用口腔拭子刷脸颊内侧 15 秒（约 20 下），确保覆盖了脸颊内侧的所有区域。将拭子放在一个干净的离心管内用 200μl 液体与细胞消化液（红色）与 200μl 基因组 DNA 洗脱液的混合液清洗拭子。添加 20μl 的蛋白酶 K 混匀，然后在 55°C 下孵育 10 分钟。然后从生物液体及细胞操作步骤的第 3 步进行操作。

附录 B:

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）

生物液体及细胞培养物

1. 添加 20μl 的蛋白酶 K 到 400μl 含有样品的保护剂中。
2. 混匀或者涡旋 10-15 秒在室温下孵育 20 分钟。
3. 然后从生物液体及细胞操作步骤的第 3 步进行操作。

附录 C:

有核血液样品

1. 添加 10μl 的有核血液样品到以下混合液中：

液体与细胞消化液（红色）

200μl

蛋白酶 K	20μl
基因组 DNA 洗脱液 (或者 TE)	200μl

2. 用吸头上下吹打混匀。在 55°C 下孵育 20 分钟。
3. 添加 1 倍体积的基因组 DNA 结合液到消化的样品中，用吸头上下吹打混匀或者涡旋。在进行下述操作前，确保样品完全匀浆。
注意：用移液器上下吹打混匀确保样品完全匀浆是有必要的。涡旋振荡可辅助增强效果。
4. 将混合液转移至 2 号 C-XLR 纯化柱中，2 号 C-XLR 纯化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 2 号 C-XLR 纯化柱套在一个新的收集管里，添加 400μl 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 2 号 C-XLR 纯化柱中，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 700μl 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2 号 C-XLR 纯化柱中，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 200μl 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 2 号 C-XLR 纯化柱中，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 2 号 C-XLR 纯化柱移至干净的 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，全速离心 1 分钟来洗脱基因组 DNA。

组件查询

组件名称	货号	规格	规格
蛋白酶 K	TD3001-2-B	20 mg	-20°C
蛋白酶 K 保存液	TD3001-2-D	1.2 ml	-20°C
液体与细胞消化液 (红)	TD4068-1-12	12 ml	室温
	TD4068-1-45	45 ml	
基因组 DNA 结合液	TD4068-3-25	25ml	室温
	TD4068-3-85	85ml	
基因组 DNA 洗涤液 1	TD3004-5-30	30ml	室温
	TD3004-5-50	50ml	
基因组 DNA 洗涤液 2	TD3004-2-50	50ml	室温
	TD3004-2-200	200ml	
基因组 DNA 洗脱液	TD3004-3-10	10 ml	室温

	TD3004-3-50	50 ml	
2号 C-XLR 纯化柱	TC1104-10	10 个	室温
	TC1104-50	50 个	
2ml 收集管	TC1001-50	50 个	室温
	TC1001-200	200 个	