

组织基因组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。

产品货号：

TD325- 10 (10次反应) TD325- 50 (50次反应) TD325- 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
固体组织	2
附录A	3
附录B	3
附录C	4
组件查询	5

产品组份

试剂盒组成	10次	50次	200次	保存
蛋白酶K	5 mg	20 mg	4 x20 mg	-20°C
蛋白酶K保存液	500µl	1.2ml	4*1.2ml	-20°C
固体组织消化液（蓝色）	2 ml	6 ml	20 ml	室温
基因组DNA结合液	5 ml	25 ml	85 ml	室温
基因组DNA洗涤液1	6 ml	30 ml	2 x 50 ml	室温
基因组DNA洗涤液2	10 ml	50 ml	200 ml	室温
基因组DNA洗脱液	2 ml	10 ml	50 ml	室温
2号C-XLR纯化柱	10个	50个	200个	室温
2ml 收集管	20个	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: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Abs260/280 ≥ 1.8 Abs260/230 ≥ 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1-3µgDNA。每mg的肝，肾，肺组织中提取到3-5µgDNA。
- ◇ 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

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°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。参看附录。
- ◇ 针对头发，毛发等组织。参看附录。

溶液制备：

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°C长期保存。。

操作步骤：

固体组织

1. 添加≤25mg的组织到一个离心管里，并且添加：

无 DNase/RNase 水	95μ
固体组织消化液（蓝色）	95μl
蛋白酶K	10μl

2. 混匀或者涡旋振荡10-15秒然后在55°C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 2号 C-XLR 纯化柱中，2号 C-XLR 纯化柱套在一个收集管里，在≥12,000 x 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≥12,000 x 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≥12,000 x 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≥12,000 x 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≥ 50μl 的基因组 DNA 洗脱液到柱基质上（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：

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B：

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 ≤ 25 mg 的样品配置比例如下：

无 DNase/RNase 水	90 μ l
固体组织消化液（蓝色）	90 μ l
DTT(1M)	10 μ l
蛋白酶K	10 μ l

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400 μ l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 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 400 μ l 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 700 μ l 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 200 μ l 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 $\geq 50\mu$ 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。

附录C：

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 μ l 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 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。
9. 倒掉收集管中的废液并且重复步骤 8。
10. 将 2 号 C-XLR 纯化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 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。
11. 添加 700 μ l 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。
12. 添加 200 μ l 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。
13. 将 2 号 C-XLR 纯化柱移至干净的 1.5ml 离心管中直接添加 $\geq 50\mu$ l 的基因组 DNA 洗脱液到纯化柱基质上（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。

组件查询

组件名称	货号	规格	规格
蛋白酶K	TD3001-2-A	5 mg	-20 $^{\circ}$ C
	TD3001-2-B	20 mg	

蛋白酶K保存液	TD3001-2-C	500 μ l	-20 $^{\circ}$ C
	TD3001-2-D	1.2 ml	
固体组织消化液 (蓝色)	TD4068-2-2	2 ml	室温
	TD4068-2-6	6 ml	
	TD4068-2-20	20 ml	
基因组DNA结合液	TD4068-3-5	5 ml	室温
	TD4068-3-25	25ml	
	TD4068-3-85	85ml	
基因组 DNA 洗涤液 1	TD3004-5-6	6ml	室温
	TD3004-5-30	30ml	
	TD3004-5-50	50ml	
基因组DNA洗涤液2	TD3004-2-10	10ml	室温
	TD3004-2-50	50ml	
	TD3004-2-200	200ml	
基因组DNA洗脱液	TD3004-3-2	2ml	室温
	TD3004-3-10	10 ml	
	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	TC1001-20	20个	室温
	TC1001-50	50个	
	TC1001-200	200个	