



血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒

(Universal Genomic DNA Kit)

目录号: ZP311

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP311-01 (20次)	ZP311-02 (50次)	ZP311-03 (100次)
缓冲液 A	10 ml	15 ml	30 ml
缓冲液 B	10 ml	15 ml	30 ml
缓冲液 C	15 ml	30 ml	60ml
漂洗液 W2	15 ml	15 ml	2×15 ml
洗脱缓冲液 TE	15 ml	15 ml	30 ml
蛋白酶 K	0.2ml	0.5ml	1 ml
吸附柱	20 个	50 个	100 个
收集管 (2 ml)	20 个	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份	1 份

选配试剂:

红细胞裂解液 (目录号: ZS110); RNaseA (10mg/ml) (目录号: ZS103)

储存条件:

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下可保存 12 个月;更长时间的保存可置于 2-8°C。

产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,提取多种细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

提取得率:

材料	提取量	DNA 得量
哺乳动物全血	100-400 µl	3-10 µg
禽类、两栖类全血	5-20 µl	5-40 µg
动物细胞培养液	10 ⁶ -10 ⁷ cells	5-30 µg
动物组织	30 mg	10-30 µg

产品特点:

简单快速: 一小时内即可获得超纯的基因组 DNA。

广泛: 适用于血液、多种动物细胞和动物组织等。

超纯: 获得的 DNA 纯度高,可直接用于 PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

注意事项: 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若缓冲液 A 或缓冲液 B 中有沉淀,可在 56°C 水浴中重新溶解,摇匀后使用。
3. 所有离心步骤均为使用台式离心机,室温下离心。

操作步骤：

1. 处理材料：

- a. 如提取材料为血液，可直接使用 250 μ l 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液，不足可加缓冲液 A 补足到 250 μ l；

注意：如需处理更大体积血液，如 300 μ l-1 ml，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，300 μ l 血液加入 900 μ l 红细胞裂解液），颠倒混匀，室温放置 5 分钟，期间再颠倒混匀几次。10000rpm (~11,500 \times g)离心 1 分钟（若离心机最高转速不允许，可 3000rpm (~3,400 \times g)离心 5min），吸去上清，留下白细胞沉淀，加 250 μ l 缓冲液 A，振荡至彻底混匀。

红细胞裂解液本公司另外有售（目录号：zs110），可根据需要来决定购买。

- b. 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 - 20 μ l，可加缓冲液 A 补足 250 μ l 后进行下面的裂解步骤。
- c. 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液，然后 10,000 rpm (~11,200 \times g)离心 1 分钟，倒尽上清，加 250 μ l 缓冲液 A，振荡至彻底悬浮；
- d. 动物组织（脾组织用量应少于 10 mg）应先打碎处理为细胞悬液，然后 10,000 rpm (~11,200 \times g)离心 1 分钟，倒尽上清，加 250 μ l 缓冲液 A，振荡至彻底悬浮。

注意：如果需要去除 RNA，可加入 4 μ l RNaseA (10mg/ml) 溶液（客户自备，目录号：zs103），振荡 15 秒，室温放置 5 分钟。

2. 加入 10 μ l 蛋白酶 K 溶液，混匀。

- 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 56 $^{\circ}$ 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 小时即可完成（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。

3. 加入 250 μ l 缓冲液 B，充分轻轻上下振荡混匀，70 $^{\circ}$ C 放置 10 分钟，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

注意：加入缓冲液 B 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。

4. 加入 250 μ l 无水乙醇，充分轻轻振荡混匀 15 秒，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。
5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。
注意：可以采用开盖离心，这样会减少 90% 的堵柱。
6. 向吸附柱中加入 500 μ l 缓冲液 C，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放入收集管中。
7. 向吸附柱中加入 700 μ l 漂洗液 W2（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放入收集管中。重复此步骤一次。
8. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 2 分钟，倒掉废液。将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。
9. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 80-200 μ l 洗脱缓冲液 TE，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于 80 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组 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 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 2 分钟。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内（可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围），pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解。