

描述: 该试剂盒可以快速可靠的从动物组织、培养细胞中提取基因组 DNA, 整个用时在 15min 内完成。提取效率高(通常可获得 3-5μg 的总产量), 获得的基因组 DNA 浓度约 40-100ng/μl。应用本试剂盒获取的 DNA 纯度高, A260/A280 通常为 1.7-1.9。应用本试剂盒提取的 DNA 可直接用于限制性酶切反应、PCR、文库构建、Southern 杂交等多种分子生物学实验。

组分

名称	数量
10 mg/ml RnaseA	0.5 ml
gDNA AL12	3 ml
gDNA BP22	15 ml
gDNA CP32	8 ml
Washing Buffer (已含乙醇)	55 ml
DNA Elution Buffer	10 ml
吸附柱芯(NP05)	50 套
2 ml 吸附柱外套管	50 套
1.5 ml 收集管	50 套

注意事项与准备工作:

1.1 自备试剂: 异丙醇

1.2 Washing Buffer 中已经加乙醇, 无需单独添加。

1.3 gDNA AL12、gDNA BP22 与 gDNA CP32 溶液有强烈的腐蚀性, 使用时务必做好防护, 防止灼伤皮肤和眼睛。如有发生, 立即用大量的清水冲洗, 并就医。

1.4 整套吸附柱的准备: 提前将吸附柱芯放入到 2 ml 吸附柱外套管中, 待用。

1.5 室温避光保存, 有效期为 2 年。

样本的预处理:

为标准化操作步骤的建立, 推荐将组织、细胞、大肠杆菌样本做成液体悬液进行后续操作。但这并不绝对, 针对不同的样本类型, 可根据实际情况灵活调整。

2.1 动物组织 (液氮研磨法): 将研磨后的组织, 倒入 EP 管中, 称重, 根据重量加入一定量的 ddH₂O, 使组织的浓度达到约

100 mg/ml (范围 20-200 均可)。如 10 mg 组织量, 加入 100μl 的 ddH₂O, 浓度为 100mg/ml, 待用。

2.2 动物组织 (自动研磨仪): 将 50-100 mg 组织放入到 500 μl 的 ddH₂O 进行研磨成浆液, 待用。

2.3 培养贴壁或悬浮细胞, 10⁴⁻⁶ 个重悬于 100 μl 的 ddH₂O 中。

2.4 培养大肠杆菌, 10⁶⁻⁹ 个重悬于 100 μl 的 ddH₂O 中。

2.5 其它样本, 如病毒液等可直接使用。

提取操作方法

3.1 在 1.5ml EP 管底部, 加入 10 μl 的 10 mg/ml RnaseA, 并吸入准备好的 100 μl 组织、细胞、大肠杆菌悬液样本, 再加入 50 μl 的 gDNA AL12, 用旋涡混合仪, 剧烈旋涡混合 10s, 水浴锅 56℃ 放置 10min, 以裂解并消化样本中的 RNA (期间可反复震荡混合 2-3 次, 以加速组织细胞裂解)。

3.2 向上述裂解样本中加入 290 μl 的 gDNA BP22 溶液, 用旋涡混合仪, 剧烈旋涡混合 10s。

3.3 打开管盖, 向溶液中加入 150μl 的 gDNA CP32 溶液, 用旋涡混合仪, 剧烈旋涡混合 10s。

3.4 将 1.5 ml EP 管放入离心机, 13000rpm 离心 1~2min。此时, 样本中的蛋白会紧密的贴合沉淀在 EP 管底部。将上清液 (约 500 μl) 直接倒入到整套吸附柱芯中 (1.4 步骤中准备)。

注意: 勿将蛋白沉淀倒入, 并保持吸附柱管盖处于打开状态。

3.5 向吸附柱芯的溶液中, 加入 250 μl 的异丙醇 (此时总体积约 750 μl), 盖上吸附柱管盖, 上下混合 2-3 次。

注意: 此步骤务必将异丙醇与上清液混合均匀后, 再进行后续离心, 否则会导致提取效率下降。

3.6 将吸附柱放入离心机中, 13000rpm 离心 10s, 倒掉下层外套管中的过柱液, 此时 DNA 已经吸附在柱芯上。

3.7 向吸附柱芯中加入 500 μl Washing Buffer, 盖上管盖, 并上下混合 2~3 次, 进行柱芯洗涤。13000rpm 离心 10s, 倒掉下层外套管中的废液。并重复此洗涤步骤一次, 倒掉下层外套管中的废液。

3.8 将吸附柱重新放回离心机, 13000rpm 空离心 2min, 将残留的乙醇彻底甩干。

3.9 将吸附柱芯从 2 ml 吸附柱外套管中取出, 并放入到新的 1.5 ml 收集管中, 向吸附柱芯中加入 50~60 μl DNA Elution Buffer, 13,000rpm 离心 1min, 洗脱液即为基因组 DNA, 冷冻保存。