

通用型柱式基因组提取试剂盒

项目号: U665923

储存条件: 室温。

产品内容

Component	U66592350 preps	U665923 200preps
BufferGTL	15mL	60mL
BufferGL	15mL	50mL
BufferGW1 (concentrate)	13mL	52mL
BufferGW2 (concentrate)	15mL	70mL
BufferGE	15mL	60mL
ProteinaseK	1.25mL	4×1.25mL
SpinColumnsDMwithCollectionTubes	50	200

产品简介

本试剂盒适合于从新鲜或冷冻的动物组织、细胞、血液、细菌等多种样品中提取高纯度总 DNA。本品可纯化获得分子量最大为 50kb 的 DNA 片段，纯化过程不需使用苯酚或氯仿等有毒溶剂，无需乙醇沉淀。本试剂盒采用优化的缓冲体系使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可得到高纯度 DNA。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切、PCR、Real-TimePCR、文库构建、SouthernBlot、分子标记等下游实验。

自备试剂: 无水乙醇

EnzymaticLysisBuffer (提取革兰氏阳性菌基因组 DNA 时须准备)。

自备试剂: EnzymaticLysisBuffer 配方: 20mMTris, pH8.0; 2mMNa₂-EDTA; 1.2%

Triton 自备试剂: X-100; 终浓度为 20mg/mL 的 Lysozyme (溶菌酶)。

实验前准备及重要注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. 如果提取次生代谢产物大量积累或细胞壁厚的细菌培养物的基因组，建议在对数生长期早期收集样品。
3. 第一次使用前应按试剂瓶标签的说明在 BufferGW1 和 BufferGW2 中加入无水乙醇。
4. 使用前请检查 BufferGTL 和 BufferGL 是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将 BufferGL 和 BufferGTL 于 56℃ 水浴重新溶解。
5. 如果下游实验对 RNA 污染比较敏感，可以在加入 BufferGL 前加入 4 μL DNase-Free 的 RNaseA (100mg/mL)，RNaseA 本试剂盒并未提供。

操作步骤

i 血液及细胞样本基因组提取

材料处理

1a. 如果提取材料为哺乳动物抗凝血液（无核红细胞），可直接向 50-200 μ L 新鲜或冷冻的抗凝血液样品中加入 BufferGTL 补足至 200 μ L；

1b. 如果提取材料为禽类、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，取 5-10 μ L 新鲜或冷冻的抗凝血液样品，加入 BufferGTL 补足至 200 μ L；

1c. 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液（最大提取量为 5×10^6 个细胞），2,000rpm (400 \times g) 离心 5 分钟，弃尽上清，加 200 μ L GTL，振荡至样品彻底悬浮；

注意：如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4 μ L 浓度为 100mg/mL 的 RNaseA 溶液，涡旋 15 秒，室温放置 2 分钟。

2. 加入 20 μ L ProteinaseK。

3. 加入 200 μ L BufferGL，涡旋震荡充分混匀，56℃ 水浴 10 分钟。

4. 短暂离心以去除管盖内壁的水珠。加入 200 μ L 无水乙醇，涡旋震荡充分混匀。短暂离心。

注意：1) 加入 BufferGL 和无水乙醇后要立即涡旋震荡混匀。

2) 加入 BufferGL 和无水乙醇后可能会产生白色沉淀，不会影响后续实验。一些组织在加入 BufferGL

和无水乙醇后可能形成溶胶状产物，此时推荐进行剧烈震荡或涡旋处理。

上一个步骤中所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 (SpinColumnsDM) 中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 500 μ L BufferGW1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 500 μ L BufferGW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：如需进一步提高 DNA 纯度，可重复步骤 7。

8. 12,000rpm 离心 2 分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。