血液/细胞/组织基因组 DNA 纯化试剂盒

离心柱型
目录号：GF2304

产品内容

产品组成	GF2304 / (100 preps)
溶液 GA (Buffer GA)	30 ml
溶液 BG (Buffer BG)	60 ml
蛋白酶 K (20mg/ml)	1.2 ml*2
漂洗液 PW (Buffer PW)	30 ml（使用前请先加入 120 ml 无水乙醇）
洗脱缓冲液 TB (Buffer TB)	30 ml
吸附柱 CG1 (Spin Columns CG1)	100 个
收集管(2 ml) (Collection Tubes 2ml)	100 个

选配试剂

红细胞裂解液（Red Cell Lysis Buffer货号：GF1201-01）；RNase A（10 mg/ml货号：GF0201-01）

储存条件

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下，可保存12个月，更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃保存条件下，若溶液产生沉淀，使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间，必要时可在37℃水浴中预热10min，以溶解沉淀。

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，能高效、专一吸附 DNA，可有效去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物,用来提取多种细胞中的基因组 DNA。不需要苯酚、氯仿等有机溶剂，安全方便；提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。根据不同的样本量和样本类型，可以提取的 DNA 产量范围为 1-40ug。

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 得率
哺乳动物全血	100-400ul	3-10ug
禽类、两栖类全血	5-20ul	5-40ug
动物细胞培养液	10^6-10^7 cells	5-30ug
动物组织	30mg	10-30ug

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. 若溶液 GA 或溶液 BG 中有沉淀，可在 37℃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

使用前请先在漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 处理材料
   a. 如样本为血液，可直接使用 200ul 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液，不足 200ul 可加溶液 GA 补足；**注意：如需处理更大体积血液，如 300ul-1ml，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，300ul 血液加入 900ul 红细胞裂解液），颠倒混匀，室温放置 5min，期间再颠倒混匀几次。10000rpm(~11,500×g)离心 1min（若离心机最高转速不允许，可 3000rpm(~3,400×g)离心 5min），吸去上清，留下白细胞沉淀，加 200ul 溶液 GA，振荡至彻底混匀。**
   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 5-20ul，可加溶液 GA 补足 200 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 10,000rpm(~11,200×g)离心 1min，倒尽上清，加 200ul 溶液 GA，振荡至彻底悬浮。
   d. 动物组织（脾组织用量应少 10mg）应先打碎处理为细胞悬液，然后 10,000rpm(~11,200×g)离心 1min，倒尽上清，加 200ul 缓冲液 GA，振荡至彻底悬浮。
   注意：如果需要去除 RNA，可加入 40ul RNase A（10 mg/ml）溶液（客户自备，目录号：GF0201-01），振荡 15sec，室温放置 5min。
2. 加入 20ul Proteinase K 溶液，混匀。
   a. 提取血液基因组时，加入 Proteinase K，混匀，即可继续进行下一步。
   b. 提取细胞基因组时，加入 Proteinase K，混匀，即可继续进行下一步。
   c. 提取组织基因组时，加入 Proteinase K 混匀后，在 56℃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 1-3h 即可完成（鼠尾需要消化过夜），每小时颠倒混合样品 2-3 次，用水浴振荡器也可。
3. 加入 200ul 溶液 BG，充分颠倒混匀，70℃放置 10min,溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。**注意：加入溶液 BG 时可能会产生白色沉淀，一般 70℃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。当血液体积 ≤200ul 且没有采用红细胞裂解处理，或是样本储存条件不佳，水浴后颜色可能为深褐色，注意溶液中没有团块等沉淀。**
4. 加入 200ul 无水乙醇,充分振荡混匀 15sec,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 CG1 中（**吸附柱放入收集管中**），12,000rpm(~13,400×g)离心 30sec，倒掉废液，将吸附柱 CG1 放回收集管中。
6. 向吸附柱 CG1 中加入 300ul 溶液 BG，12,000rpm(~13,400×g)离心 30sec，倒掉废液，将吸附柱 CG1 放入收集管中。
7. 向吸附柱 CG1 中加入 700ul 漂洗液 PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000rpm(~13,400×g)离心 30sec，倒掉废液，将吸附柱 CG1 放入收集管中。
8. 重复操作步骤 7。
9. 将吸附柱 CG1 放回收集管中，12,000rpm(~13,400×g)离心 2min，倒掉废液。将吸附柱 CG1 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，以免影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。
10. 将吸附柱 CG1 转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-200ul 洗脱缓冲液 TB，室温放置 2-5min，12,000rpm(~13,400×g)离心 2min，将溶液收集到离心管中。
    注意：洗脱液体积不应少于 50ul，体积过小影响回收效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用 ddH_2O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；DNA 产物应保存在 -20℃，以防 DNA 降解。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 CG1 中,室温放置 2min，12,000rpm(~13,400×g)离心 2min。