

Animal Tissue/Cell /Blood DNA Extraction Kit

动物组织/细胞/血液基因组DNA 提取试剂盒

目录号

BN12051

产品组成

组分	规格 (50 次)
Buffer GA1	15 mL
Buffer GA2	15 mL
Buffer GW1	13 mL
Buffer GW2	15 mL
Buffer TE	15 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	1.0 mL
DNA Columns	50 个
Collection Tubes (2.0 mL)	50 个

保存条件

常温 (10~25°C) 保存 12 个月, 其中 Proteinase K 保存条件 -20°C。

产品简介

本试剂盒可从≤25 mg 新鲜或冷冻的动物组织 (比如鼠尾、鼠趾、肝脏等)、血液、细胞中快速提取基因组 DNA。试剂盒采用优化的缓冲体系, 使裂解液中的DNA高效特异地结合到硅基质吸附柱上。提取过程无需使用苯酚或氯仿等有毒溶剂, 得到的 DNA 浓度和纯度高, 可直接用于酶切、PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

产品特点

- DNA质量高: 提取的DNA浓度和纯度较高, 适用于对浓度、纯度和完整性要求较高的下游实验;
- 安全低毒: 无需酚、氯仿等有毒试剂。

适用范围

本品适用于冷冻或新鲜动物组织样本、新鲜血液、细胞样本的基因组DNA提取。

注意事项

1. 第一次使用前，按瓶上标签要求在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入相应体积的无水乙醇；
2. 使用前请检查 Buffer GA1 和 Buffer GA2 是否出现沉淀，如有请于 37°C 水浴溶解后使用；
3. 若下游实验受 RNA 影响较大，可在步骤 2 结束后按照要求加入 RNase A (目录号：BN20386)；
4. 为保证基因组 DNA 得率及完整性，样品请勿反复冻融；
5. 所有离心操作均在室温下进行。

使用方法

1. 样本处理
 - 1) 血液及细胞样本：
 - a. 哺乳动物抗凝血液（无核红细胞）：直接向 50~200 μL 新鲜或冷冻的抗凝血液样品中加入 Buffer GA1 补足至 200 μL ；
 - b. 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 5~20 μL 新鲜或冷冻的抗凝血液样品，加入 Buffer GA1 补足至 200 μL ；
 - c. 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），10,000 rpm (~11,200 \times g) 离心 1 min，弃尽上清，加 200 μL Buffer GA1，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 μL 浓度为 100 mg/mL 的 RNase A 溶液 (目录号：BN20386)，涡旋 15 s，室温放置 5 min。

2. 加入 20 μL Proteinase K 溶液，混匀后加入 200 μL Buffer GA2，涡旋振荡充分混匀，70°C 水浴 10 min；
3. 短暂离心以去除管盖内壁的水珠。加入 200 μL 无水乙醇，涡旋振荡充分混匀，短暂离心，进入步骤 4 过柱纯化；

2) 动物组织样本：

1. 样本处理：正确的组织取样量是获得理想产量和纯度的关键。初次使用时，推荐动物组织量为 10~15 mg，根据实验过程及结果再调整用量。样品可用液氮研磨，或机械/玻璃匀浆器等工具进行匀浆。

组织类型	推荐用量
普通动物组织	≤ 25 mg
肝、脾、肾等内脏组织	≤ 10 mg
鼠尾	一段 0.4~0.6 cm 大鼠鼠尾/ 两段 0.4~0.6 cm 小鼠鼠尾

a. 针对普通动物组织、内脏组织等易于研磨的样本：

液氮研磨：将研磨后的样品置于 1.5 mL 离心管中，加入 200 μ L Buffer GA1；

匀浆器匀浆：匀浆前向样本中加入 ≤ 80 μ L Buffer GA1 进行匀浆，匀浆后再加入 120 μ L Buffer GA1；

b. 针对鼠尾等含较硬组织的样本（过夜消化 6~8 h）：将组织样品直接置于 1.5 mL 离心管中，加入 200 μ L Buffer GA1；

注意：确保各组织的量不超出推荐范围。样品量过多可能导致裂解不充分，导致裂解液粘稠堵塞吸附柱，可能造成提取失败或得率低。

2. 加入 20 μ L Proteinase K (20 mg/mL)，涡旋振荡彻底混匀。普通动物组织 56 $^{\circ}$ C 水浴充分裂解 1~3 h（鼠尾等较硬样本需过夜消化 6~8 h），期间可数次颠倒或振荡使样品分散。如需去除 RNA，可在此步骤完成后，加入 4 μ L 浓度为 100 mg/mL 的 RNase A 溶液（目录号：BN20386），涡旋振荡 15 s，室温放置 5~10 min；

注意：若涡旋振荡或孵育后仍有胶状物，可再次加入 20 μ L Proteinase K 后孵育或延长孵育时间。

3. 加入 200 μ L Buffer GA2，涡旋振荡充分混匀，70 $^{\circ}$ C 水浴 10 min。短暂离心后加入 200 μ L 无水乙醇，立即涡旋振荡充分混匀（此步骤可能会产生白色沉淀，不影响后续实验，某些组织如脾、肺，可能形成溶胶状产物，此时推荐进行剧烈振荡或涡旋处理），进入步骤 4 过柱纯化；

过柱纯化：

4. 短暂离心，将步骤 3 所得溶液和絮状沉淀全部加入吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 s，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管中，若一次不能加完溶液，可分多次转入；

5. 向吸附柱中加入 500 μ L Buffer GW1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 s，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管中；

6. 向吸附柱中加入 600 μ L Buffer GW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 s，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管中；

7. 重复步骤 6；

8. 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 min，开盖室温晾干数分钟；

注意：此步为去除残余漂洗液，不可省略。

9. 将吸附柱置于新的离心管（自备）中，向吸附膜中间部位悬空滴加 50~200 μ L Buffer TE 或 ddH₂O，室温放置 2~5 min，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 min，收集 DNA 溶液，-20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

注意：

- 1) 若需增加产量, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 室温放置 2~5 min, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 min;
- 2) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有较大影响, 若用水作洗脱液应保证其 pH 值在 7.0~8.5 (可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围), 如需长期保存, 推荐用 Buffer TE 洗脱并于 -20°C 保存。

常见问题与解决办法

Q1: 柱子堵塞?

A1:

- 1) 样品用量过多。建议按照说明书推荐量进行提取, 尤其是富含 DNA 的组织需注意减少用量;
- 2) 样品未充分裂解或研磨。充分裂解或研磨样品, 鼠尾组织建议过夜消化;
- 3) 离心温度过低。本产品使用操作均在室温下进行。

Q2: DNA 得率低?

A2:

- 1) 样品裂解不充分。若样品过量则适当减少样品量, 延长56°C孵育时间, 或在步骤 2 中再加入 20 μL Proteinase K (20 mg/mL) 消化;
- 2) 样品用量过少。建议按照说明书推荐量进行提取;
- 3) 样品材料质量不好。尽量选用新鲜组织样品, 样品采集后应液氮速冻, 然后置于-80°C保存, 建议尽快提取, 避免反复冻融。

Q3: 后期实验受 RNA 影响?

A3:

- 1) 未加入 RNase A 消化。若后续实验需要去除 RNA 影响, 可按照说明书步骤加入 RNase A 消化;
- 2) 样品中RNA含量过多。可适当增加 RNase A 用量或延长消化时间。