

Trelief® Animal Genomic DNA Kit 动物基因组DNA提取试剂盒(通用型)

■ 目录号

TSP201-50

TSP201-200

■ 产品简介

本试剂盒采用独特的缓冲液系统配合特异性吸附DNA的离心柱，可以从新鲜及冻存的全血、血浆、血清、白膜层、淋巴细胞、动物组织、细胞等样本中简单、快速、高效地分离出DNA。获得的基因组DNA完整性好、纯度高、质量稳定，可用于PCR扩增、限制性酶切反应、Southern杂交以及基因组测序等分子生物学实验。

■ 产品组成

组分	TSP201-50 (50次)	TSP201-200 (200次)	保存条件及稳定性
Proteinase K (20 mg/mL)	1 mL	4 mL	-25~-15°C保存1年
Buffer BL	13 mL	55 mL	15~25°C保存1年

Buffer gA1	10.5 mL	41 mL	15~25°C保存1年
Buffer PW	23 mL	46 mL × 2	15~25°C保存1年， 加入无水乙醇后可保存6个月
Wash Buffer	6 mL	25 mL	15~25°C保存1年， 加入无水乙醇后可储存6个月
TE Buffer	5 mL	20 mL	15~25°C保存1年
Spin Columns T2 (吸附柱)	50个	200个	15~25°C保存1年
Collection Tubes (2 mL收集管)	50个	200个	15~25°C保存1年

■ 产品特点

- 简单快速: 1 h内即可获得超纯的基因组DNA;
- 应用广泛: 适用于各种动物样本的基因组DNA提取;
- 超纯: 获得的DNA纯度高、完整性好, 可直接用于各种分子生物学实验。

■ 注意事项及准备

- Proteinase K于-25~-15°C条件保存, 反复冻融可能导致酶活下降, 推荐对本品分装后保存与使用;
- 检查Buffer gA1、Buffer PW是否有固体析出, 如有析出, 请置于37°C水浴中溶解后摇匀;
- Buffer PW和Wash Buffer首次使用前加入指定量的无水乙醇(见瓶身), 各溶液使用后应立即盖紧盖子, 避免乙醇挥发影响实验效果;
- 样品处理量请勿超过试剂盒推荐用量, 否则可能导致样品裂解不充分;

- 不同动物组织中提取DNA的量存在差异;
- Buffer gA1和Buffer PW中含有胍盐, 操作时应带手套, 避免与皮肤直接接触。

■ 操作步骤(实验前请先阅读注意事项)

1. 将吸附柱置于收集管中, 加入250 μL Buffer BL, 12,000×g离心1 min, 活化硅胶膜。

2. 样品准备及消化

2.1 血液样品

1) 将血液样品充分融化后混匀, 加入200 μL全血样品至离心管中。(若待处理血液样本为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血, 其红细胞为有核细胞, 血液样本量为5~20 μL, 可加入PBS缓冲液补足至200 μL后进行后续实验);

2) 取20 μL Proteinase K至1.5 mL离心管底部, 然后加入200 μL充分混匀的全血样品, 涡旋振荡10 s;

注: (可选) 若样品中含有较多RNA, 或RNA对后续实验影响较大, 可在此步中加入4 μL RNase A(100 mg/mL, 自备), 颠倒混匀, 室温放置2~5 min。

3) 加入200 μL Buffer gA1, 旋涡振荡10 s, 70°C孵育15 min, 期间震荡1~2次。(V_{全血}:V_{BuffergA1}:V_{Proteinase K} = 10:10:1)。

注: -20°C及以下全血样品可长期保存, 2~8°C保存时间不宜超过10天。如使用长期保存于2~8°C的样品, 可延长孵育时间5~10 min。

2.2 组织样品

1) 将组织于组织研磨器中充分研磨(或使用干净的剪刀剪碎), 用

200 μL高纯水稀释后转入1.5 mL离心管中。(对于不易消化的动物组织,可于液氮中研磨后再消化);

2) 加入20 μL Proteinase K至含有样品的离心管中,然后加入200 μL高纯水稀释后的组织碎片,涡旋振荡10 s;

注:(可选)若样品中含有较多RNA,或RNA对后续实验影响较大,可在此步中加入4 μL RNase A(100 mg/mL,自备),颠倒混匀,室温放置2~5 min。

3) 加入200 μL Buffer gA1,旋涡振荡10 s,56°C孵育1~3 h或过夜。

2.3 细胞样品

a. 收集悬浮细胞:计算细胞数目,吸取所需体积细胞培养液,300×g离心5 min,小心将上清完全吸弃,切勿吸走细胞沉淀。(若提取精液DNA,取20~200 μL精液,于12,00×g离心5 min,加入500 μL PBS缓冲液洗涤2次,收集细胞沉淀进行消化);

b. 收集贴壁细胞

1) 胰蛋白酶消化收集细胞:计算细胞数目,吸净细胞培养液,用PBS缓冲液洗涤细胞1次,加入终浓度为0.1~0.25%的胰蛋白酶(自备),当细胞从培养瓶上脱落后收集所需体积细胞,300 × g离心5 min,小心将上清完全吸弃,切勿吸走细胞沉淀;

细胞刮收集细胞:计算细胞数目,使用细胞刮将细胞从培养瓶上刮下,取所需体积细胞培养液,300×g离心5 min,小心将上清完全吸弃,切勿吸走细胞沉淀。

2) 加入200 μL高纯水悬浮细胞沉淀;

3) 加入20 μL Proteinase K至含有样品的离心管中,涡旋振荡10 s;

注:(可选)若样品中含有较多RNA,或RNA对后续实验影响较大,

可在此步中加入4 μL RNase A(100 mg/mL,自备),颠倒混匀,室温放置2~5 min。

4)加入200 μL Buffer gA1,涡旋振荡10 s,56°C孵育0.5~1 h,期间震荡3~5次。

3. 孵育结束后加入200 μL无水乙醇,涡旋振荡混匀。 $(V_{\text{无水乙醇}} \approx (V_{\text{样品}} + V_{\text{Buffer gA1}})/2)$ 。

注:若孵育结束后,样品中有明显的组织碎片,则先将样品进行12,000 × g离心5 min处理,取上清进行本操作。

4. 将步骤3所得溶液全部转入吸附柱中,12,000 × g离心1 min,弃废液。

5. 向吸附柱中加入500 μL Buffer PW(使用前请先检查是否已加入无水乙醇),12,000×g离心30 s,弃废液。

6. 重复步骤5一次。

7. 向吸附柱中加入500 μL Wash Buffer(使用前请先检查是否已加入无水乙醇),12,000×g离心30 s,弃废液。

8. 将吸附柱放回收集管中,12,000 × g离心2 min,开盖晾干1 min。

注:充分挥发漂洗液中的乙醇,乙醇残留会影响后续的酶促反应。

9. 取出吸附柱,放入一个干净的1.5 mL离心管中,在吸附膜的中央处加50~100 μL TE Buffer(65°C预热5 min洗脱效果更佳),20~25°C放置2 min,12,000×g离心2 min。如果需要较多量DNA,可将得到的溶液重新加入吸附柱中,离心2 min。

注:洗脱体积越大,洗脱得率越高。若需得到较高浓度的DNA,可以适当减少洗脱体积,但最小体积应不少于50 μL,体积过小会降低DNA洗脱得率,降低产量。

▪ 保存条件

保质期1年,试剂盒各组分保存条件见产品组成。

▪ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议,欢迎随时与我们联系:product@tsingke.com.cn。

