



Tissue/Cell Total DNA Extraction Kit

DP301

产品概述

Product Overview

本试剂盒采用硅胶柱纯化技术，适用于从新鲜或冷冻的植物组织（包括多糖多酚样本）、动物组织、细胞、细菌等多种样品中快速、高效地提取高纯度基因组 DNA，提取过程中无需使用酚氯仿等有毒试剂，优化的裂解体系裂解能力强，可有效去除蛋白质、RNA、脂类及盐类杂质；提取的 DNA 完整性好、纯度高，质量稳定，溶解于 Elution Buffer 或灭菌水后可直接用于 PCR、qPCR、酶切、文库构建、Southern Blot、gDNA 序列分析及病毒检测等下游实验。

产品组成

Product Composition

组分	DP301 50 rxns
Buffer GTL	40 mL
Proteinase K	1 mL
RNase A	500 μ L
Buffer WA	40 mL
Buffer WB	12 mL
Elution Buffer	12 mL
gDNA Mini Columns with Collection Tubes	50 套

注意事项

Precautions

- 操作过程中，取放 gDNA Mini Columns 时应保持吸附柱竖直，避免柱头触碰收集管管壁，以防污染；
- 使用前请检查 Buffer GTL 是否出现结晶或沉淀，如有结晶或沉淀，请于 56°C 水浴重新溶解；
- 尽量使用新鲜的实验材料，避免反复冻融，否则会导致基因组 DNA 降解，降低提取效率；
- 使用液氮研磨组织材料时，应持续补充液氮，以确保研磨过程中基因组 DNA 不被降解；
- gDNA Mini Columns 的最大容积为 750 μ L，若液体体积超过该容积，请分次上样；
- 所有操作步骤均在常温（15~25°C）下进行。

操作流程

Operation Process

一、实验前准备

自备无水乙醇、1.5 mL 离心管，按照瓶身说明给 Buffer WB 加入无水乙醇，并做好标记。

二、样本处理

■ 动物组织、植物组织

1. 将新鲜或 -80℃ 冻存的动物、植物组织样品转移至液氮预冷的研钵中，用研杵研磨动物、植物组织，直至研磨成粉末状（无明显可见颗粒）。
2. 取 25 mg - 100 mg 已研磨成粉末状的动物组织或植物组织样本转移至含有 500 μL Buffer GTL、20 μL Proteinase K 和 10 μL RNase A 的 1.5 mL 离心管中，立即颠倒或涡旋混匀样本，于 56℃ 水浴加热 30 min 至组织充分裂解（充分裂解的溶液应呈现澄清透明且不粘稠的状态）。

■ 细胞样本

1. 将细胞培养液 5,000 rpm 室温离心 5 min，弃上清，收集约 1.0×10^6 个细胞/离心管，向离心管中加入 200 μL 的 PBS 重悬细胞。

注：贴壁细胞可采用细胞刮或洁净的枪头剥离，亦可先用胰酶对细胞进行消化，然后离心收集细胞。

2. 向悬浮液中加入 500 μL Buffer GTL、20 μL Proteinase K 和 10 μL RNase A，用移液枪充分吸打混匀，于 56℃ 水浴加热 30 min 使样本充分裂解（充分裂解的溶液应呈现澄清透明且不粘稠的状态）。

■ 细菌

1. 12,000 rpm 室温离心 2 min，收集 $OD_{600} = 1.0$ 时的菌液 < 5 mL（约 1.5×10^9 个细菌/mL），弃上清。
2. 向沉淀中加入 500 μL Buffer GTL、20 μL Proteinase K 和 10 μL RNase A，充分吸打混匀至溶液中没有小菌块，于 56℃ 水浴加热 30 min 使样本完全裂解（充分裂解的溶液应呈现澄清透明且不粘稠的状态）。

三、纯化

1. 裂解完后的样本 12,000 rpm 离心 3 min，将上清转移至新的离心管中（注意不要吸到沉淀）。
2. 加入 150 μL 无水乙醇，振荡混匀，可能会出现絮状沉淀，短暂离心以收集管盖内壁上的液体。
3. 将上述溶液全量转移至 gDNA Mini Columns 中，室温静置 1 min，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。

注：若总体积大于 750 μL（超过吸附柱最大容积），需分两次上柱，每次 ≤ 750 μL。

4. 将吸附柱置于收集管中，沿管壁加入 500 μL Buffer WA，12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液。
5. 将吸附柱置于收集管中，沿管壁加入 600 μL Buffer WB（使用前先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 min，弃滤液。
6. 重复步骤5。
7. 将吸附柱置于收集管中，12,000 rpm 空柱离心 2 min。
8. 将吸附柱转移至新的 1.5 mL 离心管中，开盖放置 2 - 5 min，使残留的乙醇彻底挥发。
9. 向吸附柱膜中央滴加 50 - 200 μL Elution Buffer，室温放置 2 - 5 min，12,000 rpm 离心 1 min，弃吸附柱。

以下操作均可帮助提高产量：将 Elution Buffer 预热至 60℃ 后加入膜中央，可将第一次洗脱所得溶液重新加入吸附柱进行洗脱。

10. DNA 产物于 -20℃ 保存，长期保存请置于 -80℃，以防降解。

保存条件

Storage Conditions

Proteinase K 及 RNase A 干冰运输，-20℃ 保存，其他组分室温运输，室温保存，有效期：24个月。