

动物组织基因组 DNA 小量提取试剂盒

一、产品简介

本试剂盒采用独特的组织和细胞裂解液, 无需研磨, 配合蛋白酶 K 裂解细胞释放基因组 DNA, 释放的基因组 DNA 被选择性吸附到硅胶膜上。优化的 DNA 吸附柱完全避免被堵塞的情况, 确保样品提取的均一性。

本试剂盒适合从 ≤25mg 动物组织中提取多至 20 μg 基因组 DNA。纯化的基因组 DNA 长度可达 20-30 kb, 适合用于酶切、PCR、Southern 杂交、RAPD、RFLD 等分子生物学实验。

本试剂盒使用 DNA 吸附柱-C30 回收 DNA, 最大吸附量为 30 μg DNA, 最小洗脱体积为 40 μl。

试剂盒组成成分 Buffer TG-A 可作为样品稳定保存试剂, 将样品切碎或者剪碎后浸泡在 Buffer TG-A 中, 室温放置 3 个月内 DNA 不会出现明显的降解, 方便了样品的保存和运输。

相关产品: 痕量 DNA 提取试剂盒(DK803)

使用 DK803 处理 DNA 有明显降解的组织(乙醇或者福尔马林等固定液浸泡的组织)可获得更高的产量, 处理石蜡包埋组织无需脱蜡。从更少量的组织(比如 1-5 mg)中提取 DNA, 建议使用 DK803。

二、试剂盒组成和储存

组成内容	DK611-01 (50 次)	DK611-02 (200 次)
Proteinase K*	1 ml	4 × 1 ml
Buffer TG-A	15 ml	60 ml
Buffer TG-B	15 ml	60 ml
Buffer WAG	30 ml	120 ml
Buffer WB1 [§]	16 ml	65 ml
DNA 吸附柱-C30	50 个	200 个
收集管	50 个 × 3	200 个 × 3
1.5 ml 离心管(用于洗脱)	50 个	200 个
TE [※]	15 ml	30 ml
说明书	1 份	1 份

*Proteinase K: 20 mg/ml, 室温保存。可能会析出白色粉末状、絮状或者晶体状不溶物, 不影响使用效果, 使用前混合均匀。

§Buffer WB1: 第一次使用前按试剂瓶所示体积加入无水乙醇或者95%乙醇, 混合均匀。

※TE: 10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, 0.25%NaN₃, pH 8.0(25°C)。

所有试剂盒组成成分可于室温储存。

三、安全注意事项

1. Buffer TG-A、Buffer TG-B 和 Buffer WAG 含刺激性化合物, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服、谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛, 立即使用大量水或生理盐水冲洗沾染处, 必要时寻求医疗咨询。
2. 操作步骤 11, 如果离心机转子没有盖子或者使用气密型盖子, 在将 1.5ml 离心管盖子扣在 DNA 吸附柱上后, 务必去除 DNA 吸附柱的盖子(剪掉或者拧断, 见 Page3-2 图示); 因为高速离心时未扣在 DNA 吸附柱上的盖子容易脱落, 造成安全隐患。

四、从动物肝脏等富含糖原的组织中提取 DNA 的建议

动物肝脏富含糖原。糖原影响 A260 和 A280 吸光度测定, 大量糖原残留会影响 PCR 和酶切。

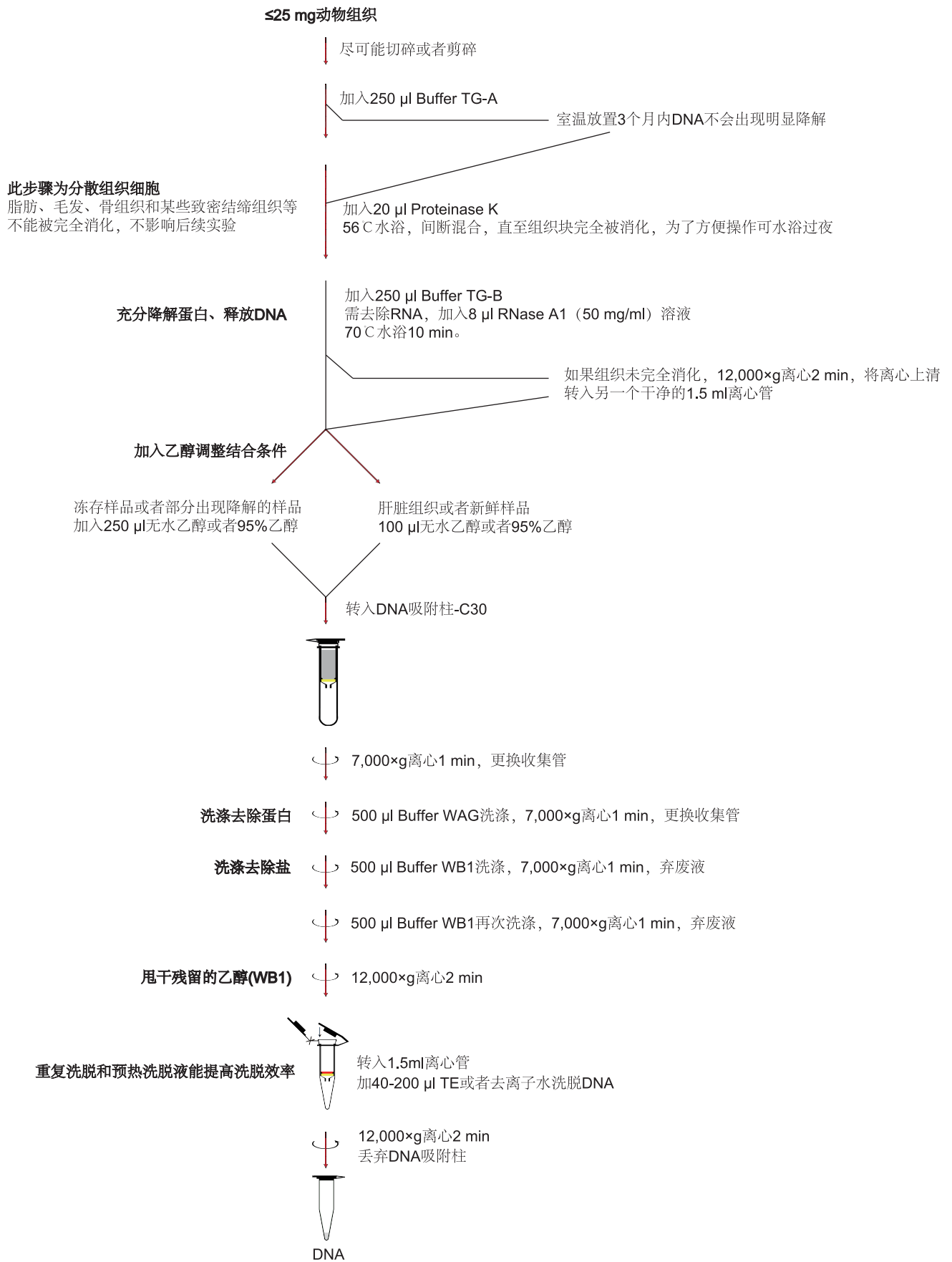
糖原不溶于醇类, 在步骤 5 加乙醇调整结合条件时会有糖原析出, 在步骤 6 离心时被截留在 DNA 吸附柱中, 后续的洗涤步骤无法去除。

建议分离肝脏前将动物饥饿一天, 以减少肝脏中的糖原; 步骤 5 按说明书操作加入 100 μl 无水乙醇或者 95%乙醇, 以减少糖原析出的比例。

五、实验准备

1. 56°C 和 70°C 水浴; 56°C 或者 70°C 预热 TE 或者去离子水 (pH ≥ 7)。
2. 无水乙醇或者 95%乙醇。
3. 第一次使用前, 按试剂瓶所示体积在 Buffer WB1 中加入无水乙醇或者 95%乙醇, 混合均匀。

六、操作流程示意图



七、操作步骤（所有离心操作均为室温）

1. 称取 ≤ 25 mg 切碎的动物组织，尽可能切碎或者剪碎，放入干净的 1.5 ml 离心管中。

▲ 切碎或者剪碎动物组织可以减少操作步骤 2 的水浴时间。肌肉和内脏等组织可以切为肉泥状，鼠尾可以剪切为薄片。

2. 加入 $20 \mu\text{l}$ Proteinase K，加入 $250 \mu\text{l}$ Buffer TG-A，Vortex 10 秒或者剧烈摇晃 20 次混合均匀，置于 56°C 水浴，间断混合，直至组织块完全被消化（脂肪、毛发、骨组织和某些致密结缔组织等不能被完全消化，不影响后续实验）。

▲ 加入 Buffer TG-A 混合均匀后溶液为混浊状，每 4-5 min 剧烈震荡或者摇晃有助于分散组织块，加快消化组织的速度；一般水浴 10-20 min 后溶液为透亮状，每 20-30 min 剧烈震荡或者摇晃一次即可。

▲ 水浴时间因动物组织类型和组织块大小而异。比如切碎的肌肉组织约 30 min 即可消化完全；鼠尾 1-3 小时可消化完全，但幼鼠尾尖部脂肪不能被完全消化。也可以过夜消化，不影响实验效果；如果选择过夜消化组织，无需在水浴期间间断混合。

3. 加入 $250 \mu\text{l}$ Buffer TG-B，Vortex 震荡 10 秒或者剧烈摇晃 20 次混合均匀，置于 70°C 水浴 10 min。

▲ RNA 残留可能会影响酶切但不影响 PCR。如需去除 RNA，可在此步骤加入 $8 \mu\text{l}$ RNase A1 (50 mg/ml) 溶液 (Cat#RE101-02)。

4. 可选步骤（步骤 3 结束后有明显未消化的组织，需操作此步骤）

室温 $12,000 \times g$ 离心 2 min，将离心上清倒入或者用移液器转入另一个干净的 1.5 ml 离心管。

5. 根据样品种类加入乙醇调整结合条件：

冻存样品或者部分出现降解的样品，加入 $250 \mu\text{l}$ 无水乙醇或者 95%乙醇；

肝脏组织或者新鲜样品，加入 $100 \mu\text{l}$ 无水乙醇或者 95%乙醇；

温和翻转离心管 10 次混合均匀，避免产生大量泡沫，此时可能会出现絮状凝集物，不影响实验效果。

6. 将步骤 5 中的溶液和絮状凝集物一起倒入或者用移液器转入 DNA 吸附柱-C30(置于收集管中)中， $7,000 \times g$ 离心 1 min，弃收集管，将 DNA 吸附柱-C30 放入另外一个干净的收集管中。

7. 加入 $500 \mu\text{l}$ Buffer WAG， $7,000 \times g$ 离心 1 min，弃收集管，将 DNA 吸附柱-C30 放入另外一个干净的收集管中。

8. 加入 $500 \mu\text{l}$ Buffer WB1， $7,000 \times g$ 离心 1 min，弃废液，将 DNA 吸附柱-C30 放回收集管中。

9. 重复步骤 8。

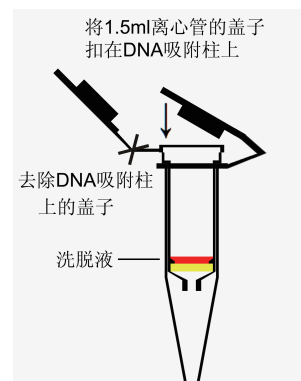
10. $12,000 \times g$ 离心 2 min。

11. 将 DNA 吸附柱-C30 转入试剂盒携带的 1.5 ml 离心管中，向硅胶膜的中央加 $40-200 \mu\text{l}$ TE 或者去离子水($\text{pH} \geq 7.0$)，将 1.5 ml 离心管的盖子扣在 DNA 吸附柱上，做好标记，去除 DNA 吸附柱的盖子(剪掉或者拧断，见右图)。室温放置 1-2min 或者更长时间， $12,000 \times g$ 离心 1 min。

▲ $56-70^\circ\text{C}$ 预热 TE 或者去离子水($\text{pH} \geq 7.0$)，可以提高洗脱效率。

▲ 如果使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至 ≥ 7.0 。

▲ 离心结束后将 1.5 ml 离心管中的洗脱液加到硅胶膜的中央，或者再加入 $\geq 40 \mu\text{l}$ TE 或者去离子水，重复此步骤，可以提高洗脱效率。



八. 从乙醇或者福尔马林等固定液浸泡的组织中提取基因组 DNA

从乙醇或者福尔马林等固定液浸泡的组织中提取的基因组 DNA 为降解的小片段(<650 bp)，长度因固定液质量和保存时间而异。

1. 将组织从固定液中取出，用 PBS 或者 TE 洗涤 2 次。

2. 去除 PBS 或者 TE，继续七、操作步骤 1。

九. 从石蜡包埋的组织中提取基因组 DNA

从石蜡包埋的组织中提取的基因组 DNA 为降解的小片段(<650 bp)，长度因石蜡的质量和保存时间而异。

1. 称取 ≤ 25 mg 石蜡包埋的组织切片。

2. 加入 1.2 ml 二甲苯，Vortex 震荡 10 秒或者剧烈摇晃 20 次混合均匀； $12,000 \times g$ 离心 5 min；用 Tips 仔细吸除离心上清(勿吸除沉淀)。

3. 加入 1.2 ml 无水乙醇，Vortex 震荡 10 秒或者剧烈摇晃 20 次混合均匀； $12,000 \times g$ 离心 5 min；用 Tips 仔细吸除离心上清(勿吸除沉淀)。

4. 重复步骤 3。

5. 打开离心管盖，室温放置 20-30 min 或者 37°C 放置 10-15 min，彻底挥发乙醇。继续七、操作步骤 2。