

版本号: DP250318

TIANamp Genomic DNA Kit

血液/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP304

产品内容

产品组成	DP304-02 (50 preps)	DP304-03 (200 preps)
缓冲液GA (Buffer GA)	15 ml	50 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	15 ml	50 ml
缓冲液GD (Buffer GD) [®]	13 ml	52 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml	60 ml
Proteinase K	1 ml	4×1 ml
吸附柱CB3 (Spin Columns CB3)	50 个	200 个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50 个	200 个

选配试剂

红细胞裂解液 (Red Cell Lysis Buffer, 客户自备, TIANGEN, 目录号: RT122);
RNA酶A (100 mg/ml) (客户自备, TIANGEN, 目录号: RT405-12)

储存条件

该试剂盒所有组分置于室温 (15-30℃) 干燥条件下, 可保存15个月。若溶液产生沉淀, 使用前可在37℃水浴中预热10 min以溶解沉淀, 不影响效果。

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，提取多种细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司新型材料，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。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。

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

产品特点：

简单快速：1 h内即可获得高纯度的基因组DNA。

广 泛：适用于血液、多种动物细胞和动物组织等。

纯 度 高：获得的DNA可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇。
2. 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。
3. 若缓冲液GA或GB中有沉淀，可在37℃水浴中重新溶解，摇匀后使用。
4. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。

操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液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

- 如提取材料为血液，可直接使用200 μ l新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液，不足200 μ l可加缓冲液GA补足；

注意：如需处理更大体积血液，如300 μ l-1 ml，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，300 μ l血液加入900 μ l红细胞裂解液），颠倒混匀，室温放置5 min，期间再颠倒混匀几次。10,000 rpm (~11,500 $\times$ g) 离心1 min（若离心机最高转速不允许，可3,000 rpm (~3,400 $\times$ g) 离心5 min），吸去上清，留下白细胞沉淀，加200 μ l缓冲液GA，振荡至彻底混匀。

红细胞裂解液本公司另外有售（TIANGEN，目录号：RT122），可根据需要来决定购买。

- 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5-20 μ l，可加缓冲液GA补足200 μ l后进行下面的裂解步骤。
- 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液，然后10,000 rpm (~11,200 $\times$ g) 离心1 min，倒尽上清，加入20 μ l洗脱缓冲液TE或PBS（客户自备）重悬，再加180 μ l缓冲液GA，振荡至彻底悬浮。
- 动物组织（脾组织用量应少10 mg）应先打碎处理为细胞悬液，然后10,000 rpm (~11,200 $\times$ g) 离心1 min，倒尽上清，加200 μ l缓冲液GA，振荡至彻底悬浮。

注意：如果需要去除RNA，可加入4 μ l RNA酶A（100 mg/ml）溶液（客户自备，TIANGEN，目录号：RT405-12），振荡15 sec，室温放置5 min。

2. 加入20 μ l蛋白酶K溶液，混匀。

- 提取血液基因组时，只需加入蛋白酶K混匀，即可继续进行下一步。
- 提取细胞基因组时，只需加入蛋白酶K混匀，即可继续进行下一步。
- 提取组织基因组时，加入蛋白酶K混匀后，在56 $^{\circ}$ C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1-3 h即可完成（鼠尾需要消化过夜）。不会影响后续操作。每小时颠倒混合样品2-3次，用水浴振荡器也可。

3. 加入200 μ l缓冲液GB，充分颠倒混匀，70 $^{\circ}$ C放置10 min，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

注意：加入缓冲液GB时可能会产生白色沉淀，一般70 $^{\circ}$ C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 $\leq$ 200 μ l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。



TIANGEN官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
- 技术公开课合集
- 全线产品查询
- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

4. 加入200 μ l无水乙醇，充分振荡混匀15 sec，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CB3中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放回收集管中。
6. 向吸附柱CB3中加入500 μ l缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
7. 向吸附柱CB3中加入600 μ l漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
8. 重复操作步骤7。
9. 将吸附柱CB3放回收集管中，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CB3置于室温放置2-5 min，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，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

10. 将吸附柱CB3转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200 μ l洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心 2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于50 μ l，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ddH₂O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；且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CB3中，室温放置2 min，12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$) 离心2 min。