

# 通用基因组DNA小量提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.3)

## 产品特点

- ◇ 可从固体组织、生物体液、细胞、头发等复杂来源的样品中提取到高纯度的基因组DNA。
- ◇ 获得的基因组DNA产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、高通量测序等敏感的分子生物学实验。

产品货号：

TD468-10 (10次反应)

TD468-50 (50次反应) TD468-200 (200次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
样品来源	2
溶液制备	2
操作步骤	3
附录A	4
附录B	4
附录C	5
附录D	5
附录E	6
组件查询	7

## 产品组成

试剂盒组成	10次	50次	200次	保存
蛋白酶K	5mg	20mg	4*20mg	-20°C
蛋白酶K保存液	500μl	1.2ml	4*1.2ml	-20°C
通用消化液	4ml	20ml	70ml	室温
基因组DNA结合液	5ml	25ml	85ml	室温
基因组DNA洗涤液1	6ml	30ml	2*50ml	室温
基因组DNA洗涤液2	10ml	50ml	200ml	室温
基因组DNA洗脱液	2ml	10ml	50ml	室温
2号C-XLR纯化柱	10个	50个	200个	室温
2ml收集管	20个	100个	400个	室温

## 注意事项

- ◇ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ◇ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或pH值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。
- ◇ 环境温度低时基因组通用消化液或者基因组DNA洗涤液1可能出现析出和沉淀，可以在37°C水浴几分钟帮助重新溶解使用。

## 产品特性

- ◇ 样品种类：固体组织、全血、细胞、毛发、保存在保护剂里的样品等。获得的基因组DNA产量高、纯度好，可直接用于PCR等各种分子生物学实验。不推荐使用此试剂盒提取小DNA或者游离DNA（可使用TD476产品）
- ◇ 基因组DNA大小：一般可回收到大于50kb的基因组DNA。如果样品中存在线粒体DNA，病毒DNA等也会一起提取到。
- ◇ DNA纯度：获得的基因组DNA产量高、纯度好，可以直接用PCR等各种分子生物学实验。一般情况Abs 260/280≥1.8 Abs 260/230≥2.0。

- ◇ 基因组DNA产量：针对哺乳动物组织可从每mg的心脏，脑组织中提取到1-3 $\mu$ g DNA。每mg的肝，肾，肺组织中提取到3-5 $\mu$ g DNA。100 $\mu$ l全血中回收到3 $\mu$ g以上的基因组DNA。
- ◇ 需要的仪器设备：水浴锅或者金属浴（55 $^{\circ}$ C）。微型离心机，涡旋仪。

## 样品来源

### 液体样品

可从 $\leq 200\mu$ l全血、有核血、血块黄层、唾液、痰、精子、乳汁等样品里提取到总DNA。

- ◇ 对于保存在DNA/RNA保护剂里的液体样品。
- ◇ 有核血液样品，比如禽类血液。
- ◇ 全血，唾液及保存在Guthrie, FTA<sup>®</sup>上或其他保存纸（卡）上的细胞。
- ◇ 对于从血清、血浆中提取病毒DNA，按照生物液体和细胞的操作流程就可以。对于游离DNA的提取，推荐使用游离DNA提取试剂盒（TD476）。
- ◇ 对于提取尿液中细胞的DNA，在3,000xg离心力下离心15分钟富集细胞，在提取之前去除上清，然后按照生物液体及细胞操作步骤操作。

### 哺乳动物或昆虫细胞培养物

可从 $\leq 5 \times 10^6$ 细胞内（如HeLa细胞、HEK-293细胞、Drosophila细胞等）样品里提取到总DNA。

- ◇ 在处理细胞沉淀之前需要去除培养基。（大约在500xg离心力下离心2分钟，取决于细胞类型和体积，然后去除上清）
- ◇ 对于哺乳动物细胞，蛋白酶K的消化时间在55 $^{\circ}$ C下可以减少到5分钟。
- ◇ 对于单层细胞和口腔细胞的制备和收集参看第3页。
- ◇ 对于保存在DNA/RNA保护剂中的样品。参看第4页。

### 固体样品

可从 $\leq 25$ mg尾巴、耳朵、器官活检（脑、肝、心脏、肾、肌肉、胃、膀胱、肠）等样品里提取到总DNA。

- ◇ 可采用55 $^{\circ}$ C过液蛋白酶K消化步骤。
- ◇ 针对保存在DNA/RNA保护剂中的固体组织。
- ◇ 针对头发，毛发等组织。

## 溶液制备

使用前需要添加1060 $\mu$ l保存液到20mg蛋白酶K里，蛋白酶K的终浓度约为20mg/ml，混合之后需要放到-20 $^{\circ}$ C保存。

## 操作步骤

使用基因组DNA洗脱液或其他等渗溶液（如PBS）来重悬培养的细胞沉淀。

（ $\leq 1 \times 10^6$ 细胞使用100 $\mu$ l基因组DNA洗脱液， $10^6$ - $5 \times 10^6$ 细胞数使用200 $\mu$ l基因组DNA洗脱液）  
55°C下的蛋白酶K过夜消化不会影响DNA的完整性。

生物液体和细胞	固体组织
<ol style="list-style-type: none"><li>添加最多200<math>\mu</math>l的样品到一个离心管中并且添加： 200<math>\mu</math>l通用消化液 20<math>\mu</math>l蛋白酶K 注意：如果样品不足200<math>\mu</math>l则需要按照比例调整通用消化液，蛋白酶K及其基因组DNA结合液的用量。</li><li>混匀或者涡旋振荡10-15秒然后在55°C下孵育10分钟。</li><li>混匀1倍体积的基因组DNA结合液到消化的样品中，混匀或者涡旋振荡10-15秒。 例如：添加420<math>\mu</math>l的基因组DNA结合液到420<math>\mu</math>l消化的样品中。</li></ol>	<ol style="list-style-type: none"><li>添加<math>\leq 25</math>mg的组织到一个离心管里，并且添加： 95<math>\mu</math>l水 95<math>\mu</math>l通用消化液 10<math>\mu</math>l蛋白酶K</li><li>混匀或者涡旋振荡10-15秒然后在55°C下孵育1-3个小时或者直到组织溶解，进行下一步之前混匀。 注意：如果消化后的样品中仍然有不溶解的组织，需要在<math>\geq 12,000</math>xg的离心力下离心1分钟，然后将上清转移到一个干净的离心管中进行下面的操作。</li><li>混匀2倍体积的基因组DNA结合液到上清中，混匀或者涡旋振荡10-15秒。 例如：添加400<math>\mu</math>l的基因组DNA结合液到200<math>\mu</math>l上清中。</li></ol>
<ol style="list-style-type: none"><li>将上清转移至2号C-XLR纯化柱中，2号C-XLR纯化柱套在一个收集管里，在<math>\geq 12,000</math>xg离心力下离心1分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。</li><li>将2号C-XLR纯化柱套在一个新的收集管里，添加400<math>\mu</math>l的基因组DNA洗涤液1到2号C-XLR纯化柱中，在<math>\geq 12,000</math>xg离心力下离心1分钟。倒掉收集管中的废液。</li><li>添加700<math>\mu</math>l的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，在<math>\geq 12,000</math>xg离心力下离心1分钟。倒掉收集管中的废液。</li><li>添加200<math>\mu</math>l的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，在<math>\geq 12,000</math>xg离心力下离心1分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。</li><li>将2号C-XLR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加<math>\geq 50</math><math>\mu</math>l的基因组DNA洗脱液到纯化柱基质上（洗脱液事先在65-70°C水浴中预热效果更好，如果是25mg的组织可以添加200<math>\mu</math>l），室温下放置2-5分钟，全速离心1分钟来洗脱基因组DNA。</li></ol>	

## 附录A

### 单细胞层样品提取

以下步骤是针对从 $5 \times 10^6$ 以内的细胞单层而设计的。虽然细胞类型和培养环境不同，但此操作步骤兼容高密度和低密度的生长细胞。

用胰蛋白酶消化或者从培养板等容器中刮下贴壁细胞。将细胞悬液在500xg下离心5分钟，去除上清液，用1ml的PBS重悬细胞沉淀并将细胞悬液移至一个离心管中。在500xg下离心5分钟细胞悬液。去除上清液，之后按照生物液体及细胞的操作步骤进行操作。

以下表格为细胞量的参考，实际情况会根据不同的细胞类型而不同

培养容器	孔或瓶的表面积	细胞数
96孔培养板	0.32-0.6cm <sup>2</sup>	4-5x10 <sup>4</sup>
24孔培养板	2cm <sup>2</sup>	1-3x10 <sup>5</sup>
12孔培养板	4cm <sup>2</sup>	4-5x10 <sup>5</sup>
6孔培养板	9.5cm <sup>2</sup>	0.5-1x10 <sup>6</sup>
T25培养瓶	25cm <sup>2</sup>	2-3x10 <sup>6</sup>
T75培养瓶	75cm <sup>2</sup>	0.6-1x10 <sup>7</sup>
T175培养瓶	175cm <sup>2</sup>	2-3x10 <sup>7</sup>

### 口腔脱落细胞及其拭子

提取口腔细胞可以通过漱口或者口腔拭子等方式。

- 漱口提取方法：用10-20ml盐溶液或者漱口水剧烈地漱口30秒。漱的越剧烈，获得的细胞会越多。将盐溶液吐到一个50ml的离心管中，在1,500RPM的转速下离心5分钟。去除上清，但不要影响细胞沉淀。之后按照生物液体及细胞的操作步骤进行操作。
- 口腔拭子提取方法：在收集细胞之前用清水漱口。用口腔拭子刷脸颊内侧15秒（约20下），确保覆盖了脸颊内侧的所有区域。将拭子放在一个干净的离心管内用200 $\mu$ l通用消化液与200 $\mu$ l基因组DNA洗脱液的混合液清洗拭子。添加20 $\mu$ l的蛋白酶K混匀，然后在55 $^{\circ}$ C下孵育10分钟。然后从生物液体及细胞操作步骤的第3步进行操作。

## 附录B

保存在DNA/RNA保护剂（EZshield<sup>®</sup>）中的样品

DNA/RNA保护剂（EZshield<sup>®</sup>）可以在常温下稳定DNA和RNA，方便样品的运输，无需冰箱或者冷链运输，并有效裂解细胞，灭活样品中的病毒。相关产品信息可与我公司联系。（TR110/TR120）

### 生物液体及细胞培养物

- 添加20 $\mu$ l的蛋白酶K到400 $\mu$ l含有样品的保护剂中。
- 混匀或者涡旋10-15秒在室温下孵育20分钟。
- 然后从生物液体及细胞操作步骤的第3步进行操作。

## 固体组织

1. 添加150 $\mu$ l的通用消化液和10 $\mu$ l蛋白酶K到每300 $\mu$ l含有样品的保护剂中。
2. 混匀或者涡旋10-15秒并在55 $^{\circ}$ C下孵育1-3小时。  
注意：55 $^{\circ}$ C下过夜操作也是可以的，并且可以增强消化的效果和DNA的回收量。
3. 添加1倍体积的基因组DNA结合液到消化的样品中，混匀或者涡旋10-15秒。
4. 从主操作步骤的第4步开始进行接下来的操作。(第3页)

## 附录C

### 有核血液样品

1. 添加10 $\mu$ l的有核血液样品到以下混合液中：

通用消化液	200 $\mu$ l
蛋白酶K	20 $\mu$ l
基因组DNA洗脱液或TE	200 $\mu$ l

2. 用吸头上下吹打混匀。在55 $^{\circ}$ C下孵育20分钟：
3. 添加1倍体积的基因组DNA结合液到消化的样品中，用吸头上下吹打混匀或者涡旋。在进行下述操作前，确保样品完全匀浆。  
注意：用移液器上下吹打混匀确保样品完全匀浆是有必要的。涡旋振荡可辅助增强效果。
4. 将混合液转移至2号C-XLR纯化柱中，2号C-XLR纯化柱套在一个收集管里，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。
5. 将2号C-XLR纯化柱套在一个新的收集管里，添加400 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液1到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。倒掉收集管中的废液。
6. 添加700 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。倒掉收集管中的废液。
7. 添加200 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。
8. 将2号C-XLR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加 $\geq 50$  $\mu$ l的基因组DNA洗脱液到纯化柱基质上（洗脱液事先在65~70 $^{\circ}$ C水浴中预热效果更好），室温下放置2-5分钟，全速离心1分钟来洗脱基因组DNA。

## 附录D

### 头发、毛发等相关样品

1. 需要用到新鲜制备的DTT（未提供）进行溶液的配制，提取 $\leq 25$ mg的样品配制比例如下：

无DNase/RNase水	90 $\mu$ l
通用消化液	90 $\mu$ l
DTT (1M)	10 $\mu$ l
蛋白酶K	10 $\mu$ l

2. 混匀或者涡旋10-15秒并在55 $^{\circ}$ C下孵育1-3小时。  
注意：55 $^{\circ}$ C下过夜操作也是可以的，并且可以增强消化的效果和DNA的回收量。

3. 添加400 $\mu$ l的基因组DNA结合液到消化的样品中，混匀或者涡旋振荡10-15秒。在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟沉淀不溶的物质。
4. 将混合物(上清)转移至2号C-XLR纯化柱中，2号C-XLR纯化柱套在一个收集管里，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。
5. 将2号C-XLR纯化柱套在一个新的收集管里，添加400 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液1到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。倒掉收集管中的废液。
6. 添加700 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。倒掉收集管中的废液。
7. 添加200 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。
8. 将2号C-XLR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加250 $\mu$ l的基因组DNA洗脱液到纯化柱基质上(洗脱液事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中预热效果更好)，室温下放置2-5分钟，全速离心1分钟来洗脱基因组DNA。

## 附录E

保存在保存卡(纸)上的样品

将保存在Guthrie, FTA或其他类似的样品保存卡(纸)上的样品通过合适的穿孔器打孔，将裁切的介质添加到我公司的裂解管中(需额外购买)，并且添加裂解液(需额外购买)，简单涡旋匀浆后进行下述操作。

1. 添加保存卡(纸)到裂解管中，添加400 $\mu$ l裂解液。
2. 拧紧盖子放到合适的振荡器中最大速度下震荡。
3. 在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心裂解管1分钟。
4. 针对裂解管里的裂解物添加以下混合物:

通用消化液	360 $\mu$ l
蛋白酶K	40 $\mu$ l

5. 混匀并在55 $^{\circ}$ C下孵育10-15分钟。
6. 在10,000xg离心力下离心裂解管1分钟。将400 $\mu$ l上清移至一个干净的离心管里。
7. 添加800 $\mu$ l的基因组DNA结合液到离心管内混匀。
8. 转移600 $\mu$ l上述混合物到转移至2号C-XLR纯化柱中，2号C-XLR纯化柱套在一个收集管里，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。
9. 倒掉收集管中的废液并且重复步骤8。
10. 将2号C-XLR纯化柱套在一个新的收集管里，添加400 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液1到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。倒掉收集管中的废液。
11. 添加700 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。倒掉收集管中的废液。
12. 添加200 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液2到2号C-XLR纯化柱中，在 $\geq 12,000$ xg离心力下离心1分钟。丢弃盛有滤出液的收集管。

13. 将2号C-XLR纯化柱移至干净的1.5ml离心管中直接添加250 $\mu$ l的基因组DNA洗脱液到纯化柱基质上（洗脱液事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中预热效果更好），室温下放置2-5分钟，全速离心1分钟来洗脱基因组DNA。

## 组件查询

组件名称	货号	规格	规格
蛋白酶K	TD3001-2-A	5mg	-20 $^{\circ}$ C
	TD3001-2-B	20mg	
蛋白酶K保存液	TD3001-2-C	500 $\mu$ l	-20 $^{\circ}$ C
	TD3001-2-D	1.2 ml	
通用消化液	TD4068-4-4	4 ml	室温
	TD4068-4-20	20 ml	
	TD4068-4-70	70 ml	
基因组DNA结合液	TD4068-3-5	5 ml	室温
	TD4068-3-25	25ml	
	TD4068-3-85	85ml	
基因组DNA洗涤液1	TD3004-5-6	6ml	室温
	TD3004-5-30	30 ml	
	TD3004-5-50	50 ml	
基因组DNA洗涤液2	TD3004-2-10	10ml	室温
	TD3004-2-50	50 ml	
	TD3004-2-200	200 ml	
基因组DNA洗脱液	TD3004-3-2	2ml	室温
	TD3004-3-10	10 ml	
	TD3004-3-50	50 ml	
2号C-XLR纯化柱	TC1104-10	10个	室温
	TC1104-50	50个	
2ml收集管	TC1001-20	20个	室温
	TC1001-50	50个	
	TC1001-200	200个	