

Tissue/Cell Total DNA Extraction

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	12 mL
Buffer GL	12 mL
Proteinase K	1 mL
RNase A	500 μ L
Buffer WA	15 mL
Buffer WB	20 mL
Elution Buffer	20 mL
gDNA Mini Columns with Collection Tubes	50 套

注意事项

Precautions

1. 使用前请检查 Buffer GTL 和 Buffer GL 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；
2. 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；
3. 第一次使用前，请按试剂瓶标签说明在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并做好标注；
4. 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；
5. 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；
6. 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；
7. 所有操作步骤均在常温（15~25°C）下进行。

操作流程

Operation Process

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 已研磨成粉末状的动物组织样本或< 100 mg 已研磨成粉末状的植物组织样本转移至含有 200 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。

注：植物材料可能残存纤维状组织无法完全裂解，裂解之后先 12,000 rpm 室温离心 2 min，转移上清液至新的 1.5 ml 离心管中，再进行后续操作。

◆ 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。向离心管中加入 200μL 的 PBS 悬浮细胞。

注：贴壁细胞可采用细胞刮或洁净的枪头剥离，亦可用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 200μL 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 10 min 使样本充分裂解，充分裂解的溶液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 < 5 mL，OD₆₀₀ = 1.0 时的菌体(约为 1.5×10^9 个细菌/ml)，弃上清。
2. 向沉淀中加入 200 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 10 min 使样本完全裂解，充分裂解的溶液呈现澄清透明且不粘稠的状态。

纯化

1. 向上述混合液中加入 200 μ L Buffer GL，充分吸打混匀，70℃水浴加热 10 min。
2. 加入 150 μ L 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。
4. 弃滤液，将吸附柱置于收集管中。沿管壁加入 500 μ L Buffer WA (使用前先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (13,400×g)离心 1 min。
5. 弃滤液，将吸附柱置于收集管中。沿管壁加入 600 μ L Buffer WB (使用前先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (13,400×g)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 (13,400 × g)空柱离心 2 min。
注：空柱离心后，可开盖放置 2 - 5 min，使残留的乙醇彻底挥发。
8. 将吸附柱转移至新的 1.5 ml 离心管(自备)中。向吸附柱膜中央滴加 50 - 200 μ l Elution Buffer，室温放置 2 - 5 min。12,000 rpm (13,400 × g)离心 1 min。

以下步骤均可帮助提高 DNA 产量：

- a. 将 Elution Buffer 预热至 55℃再洗脱。
 - b. 可将第一次洗脱所得溶液重新加入吸附柱进行洗脱。
9. 弃吸附柱，DNA 产物于-20℃保存，长期保存请置于-70℃，以防降解。

保存条件

Storage Conditions

15 ~ 25℃保存，室温运输。