

20min 全能基因组 DNA 提取试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

描述：

该试剂盒采用独特的裂解液，可快速可靠的从动物组织、细胞、细菌、病毒、全血、血清、血浆、体液、病毒液、棉拭子等样品中纯化出高纯度的 DNA。可直接用于限制性酶切反应、PCR、文库构建、Southern 杂交等多种分子生物学实验。

名称	数量	
Buffer AP4	2.5 ml	
Buffer LB5	25 ml	
Washing Buffer (已含乙醇)	55 ml	(Washing Buffer 中已经加乙醇，无需单独添加)
蛋白酶 K (20 mg/ml)	1ml	(长期保存请储存于-20℃)
RnaseA (20mg/ml)	0.25ml	(长期保存请储存于-20℃)
DNA Elution Buffer	10 ml	
吸附柱	50 套	
收集管	50 个	

操作方法：

(一) RNA 含量较高的动物组织、细胞、细菌样本的提取方法

(1) 样品组织悬液的制备：

动物组织用研钵研磨 将动物组织研磨粉碎，并取 40~60 mg 加入到 1.5ml EP 管中，加入 280 μ l 无菌水，漩涡震荡 10s 混合均匀，打开管盖加入 50 μ l 的 Buffer AP4 裂解液和 5 μ l 的 RnaseA，漩涡震荡 10s 混合均匀，室温消化 5min，以去除 RNA。

动物组织用钢珠研磨：取 50~80 mg 组织加入到 400 μ l 无菌水，在研磨仪上研磨 1min。在 1.5 ml EP 管底部加入 50 μ l 的 Buffer AP4 裂解液，并在管盖上加入 5 μ l 的 RnaseA，取 280 μ l 研磨好的组织悬液到 1.5 ml EP 管中，漩涡 10s 混合均匀，室温消化 5min，以去除 RNA。

悬浮的细胞 (104~108 个) 或细菌 (106~1011 个)：在 1.5 ml EP 管底部加入 50 μ l 的 Buffer AP4 裂解液，并在管盖上加入 5 μ l 的 Rnase A，直接吸取 280 μ l 样品到上述 EP 管中，漩涡震荡 10s 混合均匀，室温消化 5min，以去除 RNA。

细胞或细菌沉淀：可用 280 μ l 无菌水重悬细胞和细菌沉淀，并加入 50 μ l 的 Buffer AP4 裂解液和 5 μ l 的 RnaseA，漩涡震荡 10s 混合均匀，室温消化 5min，以去除 RNA。

(2) RNA 消化完毕后，向上述溶液中加入 20 μ l 的蛋白酶 K，漩涡 10s 混合均匀，并置于 56℃水浴锅(或室温条件下)中消化 5min。

(3)消化完毕后，向上述溶液中加入 500 μ l 的 Buffer LB5，漩涡混合 15s 后，13000rpm 最高转速离心 2min。将上清液倒入到吸附柱中。

(4) 13000rpm 离心 1min, 弃过柱液。向吸附柱中加入 500 μ l 的 Washing Buffer, 13000rpm 离心 15s。弃过柱液, 并重
复此步骤一次。

(5) 将吸附柱重新放回离心机, 13000rpm 空离心 2min, 将残留的乙醇彻底甩干。

(6) 将吸附柱芯放入到 1.5 ml 收集管中, 向吸附柱芯中加入 60~150 μ l DNA Elution Buffer, 室温放置 1min, 13,000rpm 离心 2min, 洗脱液即为基因组 DNA, 冷冻保存。

(二) RNA 含量较低的样本(全血、血清、血浆、体液、病毒液、棉拭子浸泡液等)的提取方法在 1.5 ml EP 管底部预先加入 50 μ l 的 Buffer AP4 裂解液, 在管盖上加入 20 μ l 的蛋白酶 K, 直接吸取 280 μ l 的液体样本到 Buffer AP4 裂解液中。上下颠倒, 并漩涡混合 10s, 使得样品、Buffer AP4 裂解液、蛋白酶 K 混合均匀, 并置于 56 $^{\circ}$ C 水浴锅中(或室温)消化 5min。

按照上述步骤(3) - (6) 进行上柱、漂洗、洗脱操作。