**微量组织基因组DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2620**

**■ 产品简介：**

本产品是通用型的微量生物样本基因组 DNA 提取试剂盒，适用于从微量动物组织，抗凝血液，凝固血块及毛囊等各种微量生物样本中提取基因组 DNA。本试剂盒采用可以特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，样品裂解后，DNA 在高盐条件下与硅胶膜结合，在低盐、高pH值时DNA从硅胶膜上洗脱下来。

采用本试剂盒提取的基因组 DNA 质量高，可直接用于PCR，酶切等下游实验。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2620（50次）** |
| 缓冲液GA1 | 25 ml |
| 漂洗液PD | 12 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 1 ml |
| Carrier RNA | 50 μl |
| 吸附柱C2（含2ml收集管） | 50个 |

**■ 保存条件**：

试剂盒室温（15-25℃）；Carrier RNA、蛋白酶 K 保存于-20℃。

**■ 自备试剂**：

无水乙醇

**■ 注意事项：**

（1）所有离心步骤均使用台式离心机，室温下操作；

（2）为了确保从微量样本中得到更多的DNA，试剂盒配备了Carrier RNA。由于Carrier RNA本身是小核酸，所以得到的基因组测定OD260值会比真实值偏大，建议将得到的基因组直接用PCR进行检测；

**■ 操作步骤：**

1. 样品处理

（1）动物组织：取1~5 mg的动物组织于0.5 ml的离心管中，尽量切成小块便于裂解。加入380 μl的缓冲液GA1和20 μl蛋白酶K，震荡混匀；

（2）抗凝血液和凝固血块：取10~50 μl抗凝血液或5~10 mg的凝固血块至0.5 ml离心管中，加入280 μl的缓冲液GA1和20 μl蛋白酶K，震荡混匀；

（3）漱口水：取10 ml漱口水样本加入50 ml离心管中，2000 rpm离心5 min，弃上清。向细胞沉淀中加入380 μl的缓冲液GA1和20 μl蛋白酶K，震荡混匀，然后将其转入1.5 ml离心管中；

**注意：2000 rpm离心5 min可收集口腔脱落细胞，如需收集口腔细菌，请增大离心转速至8000 rpm。**

（4）3根含毛囊的毛发：从头发根部毛囊处取1 cm长毛发至于1.5 ml离心管中，加入380 μl的缓冲液GA1和20 μl蛋白酶 K，震荡混匀；

**注意：对于动物组织如肝脏，肾脏和胰脏，若需要无RNA的基因组DNA，需加入20 μl RNaseA(10 mg/ml)。**

2. 将含有上述样本的1.5 ml离心管放入65℃水浴20 min，其间混匀数次，使样本充分裂解；

3. 向离心管中加入0.5倍体积的无水乙醇，如果室温超过25℃，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置3 min。简短离心以去除管盖内壁的液滴。将上一步所得溶液添加到一个吸附柱C2中，12,000 rpm离心30 sec，弃废液，将吸附柱C2放回收集管中；

4. 向吸附柱C2中加入500 µl漂洗液PD（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm离心30 sec，弃废液，将吸附柱C2放回收集管中；

5. 向吸附柱C2中加入600 µl漂洗液PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**）12,000 rpm离心30 sec，弃废液，将吸附柱C2放回收集管中；

6. 重复操作步骤5；

7. 12,000 rpm离心2 min，倒掉废液。将吸附柱C2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切、PCR等实验。**

8. 将吸附柱C2转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 µl洗脱缓冲液EB， 室温放置2-5 min，12,000 rpm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 20 μl，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱C2中，室温放置2 min，12,000 rpm离心2 min。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其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。**