

Genloci[®] TNA 抽提试剂盒说明书

(Cat.No.:GP0155/GP0156, Protocol No.PT161113-1, Nov.2016)

■ 产品说明

Genloci[®] TNA 抽提试剂盒是吉锐生物开发的用于快速高效的从生物样品中同时提取总 RNA 和基因组 DNA 的产品。该试剂盒应用范围广，可应用于细胞、动物和植物组织及各种微生物，且操作简单，尤其适用于少量或珍贵样品细胞，该试剂盒由试剂 A 和试剂 B 组成。

■ 产品组份

组份名称	GP0155	GP0156
试剂 A	6 mL×1	10 mL×2
试剂 B	300 μ L×1	1mL ×1

■ 储存方式

4℃条件下可保存 6 个月。

■ 操作步骤

1. 一般取100~10⁴个细胞于1.5 ml EP管中^①，室温1500 rpm离心5 min，小心吸掉培养液；

※注意：对于细胞不可见的情况，允许留下少量液体；吸取上清时，分两次进行，第一次枪头放于距离离心管底部约5 mm处，吸去大部分上清，第二次用枪头缓慢的将残留的液体吸除。

2. 用 150 μ L PBS 重悬细胞，4℃，1500 rpm，离心5 min，小心吸掉上清（注意点同上）；

3. 若细胞量较大，建议重复一次步骤2，细胞量少步骤2也可不做；

4. 向离心管中加入适量体积（推荐体积为50~200 μ L，如因细胞量比较少保留了少量的液体，应适当增加用量）预先配制的溶液A 与溶液 B 的混合液^②，枪头吹打5次，使细胞充分裂解，于冰上放置10 min；

5. 加入两倍体积的无水乙醇，颠倒混匀（保证离心管内没有透明的折光物质存在，混匀的情况下，内部液体均一，细胞量多的情况下会马上能看到絮状沉淀，细胞量少看不见，但不影响最终收获），-20℃条件下沉淀20 min 以上（可适当延长至几小时，细胞量少请沉淀过夜）；

6. 取出后，4℃，12000 rpm，离心30 min，直接倾倒入管内上清，并在吸水纸上轻轻倒扣几次；

※注意：离心机须提前预冷，离心管放入时有方向性，所有离心管一致，以便清楚的知道基因组沉淀在哪，避免对于量少的情况到最后一步会不小心吸走沉淀。

7. 加入400~500 μ L预冷（-20℃）的 75%乙醇洗涤沉淀，4℃，12000 rpm，离心10 min，直接倾倒入管内上清，并在吸水纸上轻轻倒扣几次，建议重复一次步骤7；

8. 4℃，12000 rpm，离心10 sec，用20 μ L枪头小心吸掉离心管底部残留的液体；

※注意：此步骤非常关键，注意避开底部的沉淀，乙醇一定要吸干净，管底和管壁不能残留一点液体。

9. 置于超净台或通风橱等空气流动处晾干（时间不要超过5min）；

10. 加入适量体积（推荐体积为10~30 μ L）灭菌的重蒸水溶解沉淀（可用移液枪吹打管壁，提高DNA得率^③），测量浓度，直接用于PCR或者-20℃保存。

※注意：①细胞数目大于1×10⁴时，建议在步骤5 前加入等体积的酚：氯仿：异戊醇（25：24：1），震荡混匀后，4℃，12000 rpm，离心20 min，取上层液体，移入新的离心管；

②混合液中试剂 A 与试剂 B 的体积比例为 20:1，为确保使用效果，混合液请现配现用，4℃可保存 15 天；

③本产品只含有提取基因组DNA的两个主要成分试剂 A 和试剂 B，以上步骤中提及的其他辅助试剂请自行准备。