

天
净
沙
系
列

CAT#:120810-25

常温运输和保存

TIANDZ

血液细胞核 DNA-线粒体 DNA 双提试剂盒

Blood Nuclear – Mitochondria DNAout

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品是在本公司血液 DNAout 产品基础上开发的、专门用于从新鲜或冷冻的哺乳动物抗凝全血中同时提取细胞核 DNA 和线粒体 DNA 的试剂。它具有下列特点：</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 一份样品可以同时得到细胞核 DNA 和线粒体 DNA，节约宝贵的实验材料。 2. DNA 产率高。细胞核 DNA 产率一般为 30-50 ug/mL 新鲜血液，线粒体 DNA 产率约为 1 ug/mL 新鲜血液。陈旧血液 DNA 产率差别较大。 3. DNA 纯净，OD260/OD280 在 1.8-2.0 之间，可直接用于 PCR、酶切、杂交等实验。 4. 适用于哺乳动物血液，不适用于其他动物血液。 5. 所用试剂安全无毒，健康环保。 																								
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="587 705 1321 1176"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>25 次大盒包装 (120810-25)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>红细胞裂解液 D 型</td> <td></td> <td>250 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 A</td> <td>120810A</td> <td>25 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 B</td> <td>120810B</td> <td>2 mL</td> </tr> <tr> <td>溶液 C</td> <td>120810C</td> <td>5 mL</td> </tr> <tr> <td>DNA 洗脱液 2.0</td> <td>111205</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>120810sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>				成份	编号	25 次大盒包装 (120810-25)	红细胞裂解液 D 型		250 mL	溶液 A	120810A	25 mL	溶液 B	120810B	2 mL	溶液 C	120810C	5 mL	DNA 洗脱液 2.0	111205	10 mL	使用手册	120810sc	1 份
成份	编号	25 次大盒包装 (120810-25)																							
红细胞裂解液 D 型		250 mL																							
溶液 A	120810A	25 mL																							
溶液 B	120810B	2 mL																							
溶液 C	120810C	5 mL																							
DNA 洗脱液 2.0	111205	10 mL																							
使用手册	120810sc	1 份																							
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输和保存，保存期限一年。</p>																								
<p>自备试剂</p>	<p>无水乙醇，75%乙醇。</p>																								
<p>使用方法</p>	<p>一：白细胞核和线粒体的分离</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 将 3 mL 用 EDTA 抗凝管收集的新鲜血液转移到一个干净的 15 mL 塑料离心管中。注意：最好使用新鲜血液。对于陈旧血液，由于冻凝过程中冰晶已经对细胞核膜和线粒体膜产生损伤，所以 DNA 得率会大大减少，具体减少多少根据冻凝时间长短不同而不同。 2. 向血液中加入等体积（3 mL）的 D 型红细胞裂解液；轻柔颠倒数次混匀，室温静置 10 分钟以裂解红细胞和白细胞的细胞膜，直至溶液变成清澈的红色。注意：D 型红细胞裂解液一旦打开后，非常容易污染细菌，未用完的部分最好-20℃保存，下次使用前，要溶解后充分摇匀。 3. 室温下 1000 g 离心 10 分钟沉淀白细胞核。 4. 转移上清（含线粒体）到新的 15 mL 塑料离心管中，注意不要触及白细胞核沉淀。 5. 在白细胞核沉淀中加入 3 mL D 型红细胞裂解液。轻柔颠倒数次混匀后，室温下 																								

	<p>1000 g 离心 10 分钟以沉淀白细胞核。</p> <p>6. 转移上清（含线粒体）到第 4 步所得的、已经含有上清的 15 mL 塑料离心管中。将白细胞核沉淀放置冰上，和即将准备好的线粒体一起用于 DNA 提取，也可以放置在-20℃待用。</p> <p>7. 将汇集的含线粒体的上清于 4℃下 15,000g 离心 30 分钟。</p> <p>8. 小心移弃上清，小心将线粒体沉淀重悬在 1 mL D 型红细胞裂解液中，然后转移到 1.5 mL 塑料离心管中，15000 g 离心 5 分钟，移弃上清得到线粒体沉淀。</p> <p>9. 用 1 mL D 型红细胞裂解液洗涤线粒体 2 次（每次先重悬线粒体，再 15000 g 离心 5 分钟得沉淀）。</p> <p>10. 所得线粒体可以直接用于 DNA 提取，也可放置在-20℃待用。</p> <p>二：DNA 的提取（下面步骤为白细胞核 DNA 提取和线粒体 DNA 提取通用）</p> <p>11. 在白细胞沉淀或线粒体沉淀中加入 0.5 mL 溶液 A，用移液枪吹打数次混匀后再加入 75 uL 溶液 B，混匀后于 55℃温育 10 分钟。注意：溶液将成浑浊状。</p> <p>12. 再加入 0.2 mL 溶液 C 充分颠倒混匀。</p> <p>13. 在 4℃下 13000g 离心 20 分钟后，将上清（含 DNA）转入一新的 1.5 mL 塑料离心管中。</p> <p>14. 加入两倍体积的自备无水乙醇充分震荡混匀后，室温 13000 g 离心 5 分钟，去尽上清。</p> <p>15. 加入 1 mL 75%乙醇，充分混匀后室温 13000g 离心 5 分钟，去尽上清。</p> <p>16. 重复上步一次。</p> <p>17. 短暂离心，去尽残留溶液（此步十分重要，不要省略）。</p> <p>18. 短暂晾干半分钟，加入适量 DNA 洗脱液 2.0 溶解 DNA（对细胞核 DNA，可加入 500 uL DNA 洗脱液 2.0，对线粒体 DNA，可加入 50 uL DNA 洗脱液 2.0）。</p> <p>19. 65℃保温 15 分钟以便彻底溶解 DNA 沉淀。溶解后的 DNA 可以立即用于后续的 OD 检测、酶切、PCR 或其他实验，也可以放置在-20℃长期保存。</p>
<p>关联产品</p>	<p>血液 DNAout (Cat#: 3671-50)</p>