

中文说明书

ReadyAmp™ Genomic DNA Purification System

适用产品目录号: A7710



ReadyAmp™ Genomic DNA Purification System

所有技术文献的英文原版均可在 www.promega.com/protocols 获得。请访问该网址以确定您使用的说明书是否为最新版本。如果您在使用该试剂盒时有任何问题，请与 Promega 北京技术服务部联系。
电子邮箱：chinatechserv@promega.com

| | |
|-------------------------|---|
| 1. 产品描述 | 2 |
| 2. 产品组分和储存条件 | 2 |
| 3. 基因组 DNA 纯化操作步骤 | 2 |
| 3.A. 从全血中纯化 DNA | 3 |
| 3.B. 从血斑中纯化 DNA | 4 |
| 4. 相关产品 | 4 |
| 5. 参考文献 | 7 |

1. 产品描述

ReadyAmp™ Genomic DNA Purification System (ReadyAmp™ 基因组 DNA 纯化系统) 为您从血液或血斑中分离单链基因组 DNA 提供了简单、高效、安全和经济的方法,提取的 DNA 可以直接应用于扩增反应。整个纯化过程不到一个小时,而且无需有机溶剂抽提或乙醇沉淀。ReadyAmp™ 基因组 DNA 纯化系统得到的单链 DNA(ssDNA)可直接应用于扩增反应和 PCR 试验而无需其他处理。

注意: ReadyAmp™ 基因组 DNA 纯化系统是为了分离可用于扩增反应的单链 DNA 而设计和优化的。如果实验要求双链质粒 DNA, lambda DNA 或者较小的 DNA 片断,我们推荐您使用 Wizard® 系列 DNA 纯化系统。

2. 产品组分和储存条件

| 产品 | 规格 | 目录号 |
|---|-----------|-------|
| ReadyAmp™ Genomic DNA Purification System | 100 preps | A7710 |

每个系统提供足够进行 100 次纯化所需的试剂。包括:

- 20ml ReadyAmp™ Genomic DNA Purification Resin
- 100ml Nuclease-Free Water (4 × 25ml)
- 1 Autoclaved Magnetic Stir Bar

储存条件: 储存于室温。

3. 基因组 DNA 纯化操作步骤

用户需准备的材料

- 1.5 ml 离心管
- 56°C 水浴或加热模块
- 100°C 水浴或加热模块

3.A. 从全血中纯化 DNA

在开始操作前，把一个水浴或加热模块的温度设定到 56°C，把另一个水浴或加热模块的温度设定到 100°C。

1. 将 1ml 的无核酸酶水加入到标记好的 1.5ml 离心管中。
2. 向每管中加入 1-400 μ l 的全血，涡旋震荡 5-10 秒钟。
3. 室温孵育 10 分钟。在此过程中每 1-2 分钟涡旋震荡一次样品。
4. 室温下以最高转速（15,000rpm）离心样品 2 分钟。
5. 弃去上清液，注意不要碰到沉淀。
6. 第一次使用该试剂盒时，请小心将经过高压处理的磁力搅拌棒放入装有 ReadyAmp™ 树脂的容器中，盖紧盖子并在磁力搅拌器上充分搅拌树脂悬浮液。

注意：请在搅拌树脂的过程中，移取 ReadyAmp™ 树脂的混悬液。

7. 向每个样品中加入 200 μ l 的树脂混悬液。
注意：当树脂的体积小于 5ml 时，在即将使用前应用力旋转容器内的树脂，以确保树脂充分重悬。
8. 涡旋震荡样品，使沉淀团块重悬。**要确保所有的沉淀团块都被充分重悬。**
9. 在 56°C 水浴或加热模块中孵育样品 20 分钟。
10. 高速涡旋震荡样品 5-10 秒钟。
11. 在 100°C 水浴或加热模块中孵育样品 8 分钟。
12. 高速涡旋震荡样品 5-10 秒钟。
13. 室温下以最高转速（15,000rpm）离心样品 2 分钟。

此时，**纯化的基因组单链 DNA 分布在上清液中**。DNA 样品应该储存于 4°C 或 -20°C 或直接应用于 PCR 扩增试验。

注意：

1. 对于一个 50 μ l 体系的扩增反应，通常 1-5 μ l 的模板量就足够了，当然具体取决于起始材料的用量。
2. 如果 DNA 样品经过储存，使用前应按照第 13 步进行离心。可以用快速狭缝印迹（slot blot）检测来估计 DNA 产量，用已知质量的基因组 DNA 的不同浓度稀释液做比较。

表 1. 起始样品量与产量的关系。

| 起始血量 (μ l) | ssDNA 预期产量 (μ g) |
|-----------------|-----------------------|
| 1 | 0.04-0.06 |
| 10 | 0.2-0.4 |
| 100 | 2-4 |
| 200 | 4-6 |
| 400 | 8-10 |

3.B. 从血斑中纯化 DNA

在开始操作前，把一个水浴或加热模块的温度设定到 56°C，把另一个水浴或加热模块的温度设定到 100°C。

1. 将 1ml 的无核酸酶水加入到标记好的 1.5ml 离心管中。
2. 向每管中加入 9-25mm² 的血斑。
3. 室温孵育 10 分钟，在此过程中每 1-2 分钟涡旋震荡一次样品。
4. 室温下以最高转速（15,000rpm）离心样品 2 分钟。
5. 弃去上清液，使血斑和沉淀物质留在管底。
6. 第一次使用该试剂盒时，请小心将经过高压处理的磁力搅拌棒放入装有 ReadyAmp™ 树脂的容器中，盖紧盖子并在磁力搅拌器上充分搅拌树脂悬浮液。

注意：请在搅拌树脂的过程中，移取 ReadyAmp™ 树脂的混悬液。

7. 向每个样品中加入 200μl 的树脂混悬液。

注意：当树脂的体积小于 5ml 时，在即将使用前应用力旋转容器内的树脂，以确保树脂充分重悬。

8. 涡旋震荡样品，使沉淀团块重悬。**要确保所有的沉淀团块都被充分重悬。**
9. 在 56°C 水浴或加热模块中孵育样品 20 分钟。
10. 高速涡旋震荡样品 5-10 秒钟。
11. 在 100°C 水浴或加热模块中孵育样品 8 分钟。
12. 高速涡旋震荡样品 5-10 秒钟。
13. 室温下以最高转速（15,000rpm）离心样品 2 分钟。

此时，**纯化的基因组单链 DNA 分布在上清液中**。DNA 样品应该储存于 4°C 或 -20°C 或直接应用于 PCR 扩增试验。

注意：

1. 对于一个 50μl 体系的扩增反应，通常 1-5μl 的模板量就足够了，当然具体取决于起始材料的用量。
2. 如果 DNA 样品经过储存，使用前应按照第 13 步进行离心。可以用快速狭缝印迹（slot blot）检测记来估计 DNA 产量，用已知质量的基因组 DNA 的不同浓度稀释液做比较（1）。

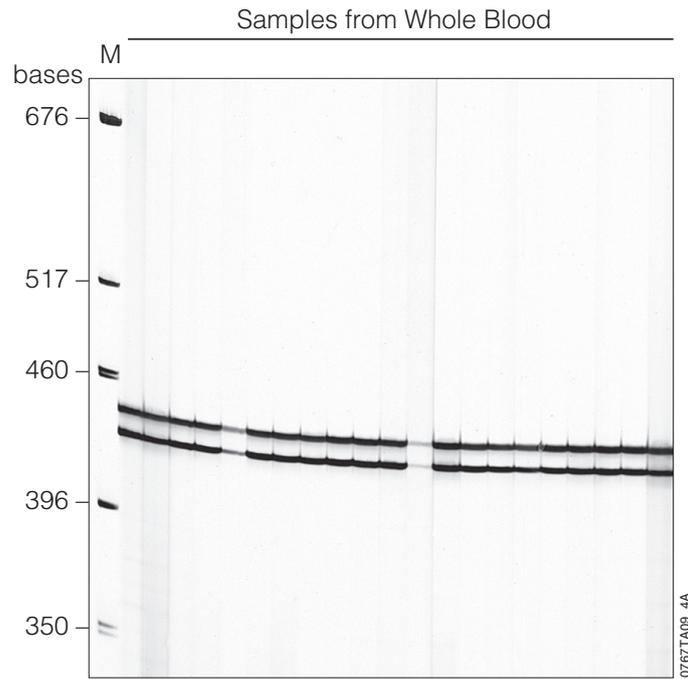


图 1. 使用 ReadyAmp™ Genomic DNA Purification System 从全血中提取 DNA 的扩增反应分析。按照说明书 3.A. 部分的说明，从 21 个全血样品中（各 100μl）分离出基因组单链 DNA。从每 200μl 单链 DNA 中取 5μl，进行 D1S80 位点扩增。扩增产物在 4% 的变性聚丙烯酰胺凝胶上进行分离，并用 DNA 银染试剂盒进行检测。M 泳道：pGEM® DNA Markers(Cat.# G1741)。

4. 相关产品

| 产品 | 规格 | 目录号 |
|---|--------------|-------|
| Wizard [®] PCR Preps DNA Purification System | 50 preps | A7170 |
| Wizard [®] PCR Preps DNA Purification Resin | 250ml | A7181 |
| Wizard [®] Genomic DNA Purification Kit | 100 × 300µl | A1120 |
| | 500 × 300µl | A1125 |
| Cell Lysis Solution | 1L | A7933 |
| Nuclei Lysis Solution | 50ml | A7941 |
| | 1L | A7943 |
| Protein Precipitation Solution | 25ml | A7951 |
| | 350 ml | A7953 |
| DNA Rehydration Solution | 50ml | A7963 |
| RNase A Solution, 4mg/ml | 1ml | A7973 |
| pGEM [®] -T Vector System I | 20 reactions | A3600 |
| pGEM [®] -T Vector System II | 20 reactions | A3610 |
| pGEM [®] -T Easy Vector System I | 20 reactions | A1360 |
| pGEM [®] -T Easy Vector System II | 20 reactions | A1380 |
| dATP, dCTP, dGTP, dTTP | 40µmol each | U1240 |

仅限实验室使用

5. 参考文献

1. Sequences Application Update #371, Schleicher & Schuell, Inc.

© 1995–2011 Promega Corporation. All Rights Reserved.

pGEM and Wizard are registered trademarks of Promega Corporation. ReadyAmp is a trademark of Promega Corporation.

Products may be covered by pending or issued patents or may have certain limitations. Please visit our Web site for more information.

All prices and specifications are subject to change without prior notice.

Product claims are subject to change. Please contact Promega Technical Services or access the Promega online catalog for the most up-to-date information on Promega products.