

DNAzol 试剂说明书

产品组成

Cat. No.	3107050	3107100
DNAzol 试剂	50 ml	100 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

产品储存于 0-30°C，有效期为两年。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：电话：400-0099-857，QQ：869912443，微信公众号：simgenbio，e-mail: technical@simgen.cn。

产品介绍

DNAzol试剂是一种完整的即用型的DNA提取试剂，适用于从动物、植物、酵母和细菌来源的固体或液体样品中分离基因组DNA。DNAzol试剂是由胍盐和多种去垢剂配制而成的生物样本裂解缓冲溶液，该溶液可从细胞裂解物中选择性溶解释放DNA，获得的上清液中的DNA后续再被乙醇沉淀。DNAzol试剂是一种先进的DNA分离试剂，兼有DNA回收效率高和操作步骤简洁的特点。

DNAzol试剂操作步骤快捷，适合从各种不同体积的样本中分离基因组DNA。在分离过程中，生物样本在DNAzol试剂中裂解，基因组DNA先用乙醇从裂解物中沉淀出来，再经75%乙醇洗涤后，DNA溶解在8 mM NaOH中。该过程可以在10-30分钟内完成，DNA回收率为70-100%。分离出的DNA无需额外纯化即可用于Southern分析、斑点印迹杂交、分子克隆和聚合酶链式反应（PCR）等应用。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇、75%乙醇、8 mM NaOH
2. 1.5 ml 离心管、移液器及吸头
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）

使用前准备

DNAzol 试剂具有腐蚀性，避免接触皮肤和眼睛，请戴手套和护目镜操作。

操作步骤：

本操作步骤是为用1 ml DNAzol试剂提取DNA而设计的，如果从更多样本中提取DNA，须将所加的DNAzol试剂及无水乙醇等用量按比例增加。

1. 不同来源样品的处理：

人或动物组织：

在研钵中用液氮将约100 mg组织研磨至粉末状，用液氮预冷过的1.5 ml离心管称取20-50 mg人或动物组织，加入1 ml DNAzol试剂，勿弃吸头，直接用吸头吹打样本数次使其溶解，进入步骤3的操作。

培养的动物细胞：

贴壁培养的细胞：每10 cm²培养细胞中加入1 ml DNAzol试剂（比如直径为3.5 cm的细胞培养皿，弃尽培养基后，直接加入1 ml DNAzol试剂），勿弃吸头，直接用吸头吹打细胞数次使细胞溶解，吸取匀浆液转移到一个1.5 ml离心管中，进入步骤3的操作。

悬浮培养的细胞：用1.5 ml离心管离心收集1~3×10⁷细胞，加100 μl PBS溶液，旋涡振荡直至细胞全部悬浮，加入1 ml DNAzol试剂，直接用吸头吹打细胞数次使细胞溶解，进入步骤3的操作。

植物组织 / 植物细胞 / 酵母 / 细菌：

在研钵中用液氮将约100 mg样品研磨至粉末状，再用液氮预冷的1.5 ml离心管称取20-50 mg研磨成粉末状的组织，加入1 ml DNAzol试剂，勿弃吸头，直接用吸头吹打样本数次使其溶解，进入步骤3的操作。

* 细菌样本也可选用溶菌酶处理：离心机12000 rpm离心30秒收集1 ml细菌样本，弃上清，加入50 μl纯水，旋涡振荡悬浮分散细菌，加入50 μl 50 mg/ml的溶菌酶溶液，颠倒混匀后37°C孵育30分钟。孵育完的细菌溶液先旋涡振荡10秒悬浮分散，再加入1 ml DNAzol试剂，用移液器吹打混匀至溶液呈无色透明，进入步骤3的操作。

液体样本（如新鲜/冷冻抗凝全血、体液等）：

每100 μl液体样本中，加入1 ml DNAzol试剂，勿弃吸头，直接用吸头吹打样本数次使其溶解，进入步骤3的操作。

* 如果有足够的新鲜抗凝全血，可用红细胞裂解液（Simgen Cat. No.: 9000500）分离出白细胞，加入100 μl PBS溶液，旋涡振荡直至细胞全部悬浮，加入1 ml DNAzol试剂，直接用吸头吹打细胞数次使细胞溶解，进入步骤3的操作。

2. 可选步骤：10000×g 离心 10 分钟，吸取上清液转移到 1.5 ml 离心管中。

* 如果样本加入DNAzol后液体不是透明状，要求必须进行此操作。

* 此步骤可从裂解物中去除不溶性组织碎片、RNA和多糖。仅用于从肝脏、肌肉和含有大量胞外物质的植物组织中分离DNA。

* 建议操作此步骤，以尽量减少RNA残留在DNA中。

3. 加入500 μl无水乙醇，上下颠倒混合样品后，4000×g离心2分钟。

* 如果已知样本中核酸含量比较低（低于2 μg），可将离心条件改为12000×g离心15分钟，能提高DNA得率。

4. 弃上清，加入1 ml 75%乙醇，盖上管盖，温和地翻转离心管4~6次，7500×g离心5分钟。

5. 重复步骤4操作一次。

6. 弃上清，盖上管盖，低速离心数秒使管壁上的乙醇沉降到管底。用200 μl吸头吸尽残留的乙醇，保留管底及管壁的白色DNA沉淀。无需干燥DNA。

7. 加入50-200 μl 8 mM NaOH溶解DNA，溶解在8 mM NaOH中的DNA在4°C下可稳定储存数月，在-20°C下可稳定储存一年以上。

* 必须用弱碱溶解DNA，因为沉淀的DNA在水中或Tri缓冲液中可能无法溶解。

* 避免剧烈摇晃或使用涡旋振荡的方法，而是通过颠倒混合的方法溶解DNA，可减少对大片段DNA的剪切。

* 为了尽量减少DNA分子的断裂，建议使用宽口径移液器吸头转移DNA溶液。宽口径移液器吸头以切下移液器吸头末端2-3 mm的方法制作。

* 若DNA（尤其是来自组织的DNA）中含有不溶性胶状物（膜碎片等）或DNA溶液呈混浊状，则12000×g离心10分钟，将含DNA的上清转移到一个新管。

* 如果获得的DNA纯度差（A260/280比值<1.70），可选择DNA纯化试剂盒（Simgen Cat. No. 2101050）纯化DNA后再使用。

全血样本可按照以下步骤操作以提高DNA产量

1. 向 2 ml 离心管中加入 500 μ l 全血和 1 ml DNAzol 试剂，盖上管盖，旋涡振荡或手动摇晃混匀。
2. 加入 400 μ l 异丙醇，盖上管盖，旋涡振荡或剧烈摇晃充分混匀，室温放置 5 分钟。
 - * 异丙醇体积等于0.4倍的DNAzol试剂体积。
 - * 将DNAzol试剂-血液裂解物与异丙醇充分混合可溶解蛋白质聚集体并提高分离DNA的质量。
3. 6000 \times g 离心 6 分钟沉淀 DNA。
4. 弃上清液，加入 500 μ l DNAzol 试剂，旋涡振荡或手动摇晃直至 DNA 沉淀完全分散。6000 \times g 离心 5 分钟。
5. 弃上清，加入 1 ml 75%乙醇洗涤 DNA 沉淀，6000 \times g 离心 5 分钟。
 - * 离心管的管盖与管口部位若有血液残留，可使用棉签小心地擦拭清除。
6. 弃上清，盖上管盖，低速离心数秒使管壁上的乙醇沉降到管底。用 200 μ l 吸头吸尽残留的乙醇，保留管底及管壁的白色 DNA 沉淀。无需干燥 DNA。
7. 加入 200 μ l 8 mM NaOH，在室温下孵育 3-5 分钟，可通过移液器反复吹打或旋涡振荡帮助溶解 DNA。