果蝇基因组 DNA 制备

Drosophila Genomic DNA Preparation

邓娟，刘南*

中国科学院生物与化学交叉研究中心，上海

*通讯作者邮箱: liunan@sioc.ac.cn

引用格式：邓娟，刘南. (2019). 果蝇基因组 DNA 制备. *Bio-101* e1010253. Doi: 10.21769/BioProtoc.1010253.

How to cite: Deng, J and Liu, N. (2019). *Drosophila* genomic DNA preparation. *Bio-101* e1010253. Doi: 10.21769/BioProtoc. 1010253. (in Chinese)

摘要： 主要介绍快速简单制备果蝇的基因组 DNA 的方法，可以为后续的实验比如基因扩增提供高质量的模板。

关键词： 果蝇基因组，DNA 制备

材料与试剂

1. 1.5 ml 离心管
2. 动物基因组 DNA 抽提试剂盒 (生工生物工程(上海)有限公司, catalog number: B518221)
3. 氯仿
4. 异丙醇
5. 乙醇
6. Tris
7. HCl
8. EDTA
9. RNase A (10 mg/ml)
10. TE buffer (见溶液配方)

仪器设备

1. 移液器

2. 水浴锅 (上海精宏实验设备有限公司, model: XMTE-8112)
3. 小型高速离心机 (Eppendorf)
4. 一次性组织研磨杵(生工生物工程(上海)有限公司, catalog number: F619071)

实验步骤

注: 提前将水浴锅调至 65 °C 备用。Buffer Digestion 在低温下可能产生沉淀, 使用前请检查, 如有沉淀, 请于 65 °C 溶解后使用。

1. 取 20~25 只果蝇, 加入到 1.5 ml 离心管中, 加入 400 μ l Buffer Digestion, 用研磨棒研碎, 震荡混匀。65 °C 水浴 1 h 至完全裂解。
 - 1.1 通常动物组织完全裂解需要 1~3 小时, 取样过多会影响提取 DNA 的质量。
 - 1.2 水浴过程中, 每 10 min 颠倒混匀一次, 可促进样品裂解。混合液变澄清透明为裂解完全。如溶液未变澄清, 说明细胞裂解不彻底, 应适当延长水浴时间, 否则将可能降低 DNA 的得率或导致提取的 DNA 不纯。
 - 1.3 如需得到无 RNA 的 DNA, 可在水浴后加入 20 μ l 的 RNase A (10 mg/ml), 室温放置 2~5 min。
2. 加入 200 μ l Buffer PA, 充分颠倒混匀, 置于-20 °C 冰箱放置 5 min。
3. 室温 10,000 rpm 离心 5 min, 将上清液 (500~550 μ l) 转移到新的 1.5 ml 离心管中。

注: 若上清液混浊, 可再加入等体积氯仿剧烈混匀, 12,000 rpm 离心取上清。
4. 加入等体积的异丙醇, 颠倒 5~8 次使之充分混匀, 室温放置 2~3 min。室温 10,000 rpm 离心 5 min, 弃上清。
5. 加入 1 ml 75%乙醇, 颠倒漂洗 1~3 min, 10,000 rpm 离心 2 min, 弃上清。

注: 漂洗时一定要使沉淀悬浮起来。
6. 重复一次步骤 5, 如果倒掉液体后残留的乙醇有挂壁现象, 则再短暂离心, 将残液用移液器吸出。
7. 开盖室温倒置 5~10 min 至残留的乙醇完全挥发。

注:

 - 1) 此步绝不可省略, 否则残留的乙醇会严重影响后续实验。
 - 2) 过度干燥将导致 DNA 重新溶解困难, 肉眼可见 DNA 沉淀变成半透明状, 离心管无明显乙醇味道即可, 避免使用真空干燥器进行干燥。

8. 得到的 DNA 用 100~200 μ l TE Buffer (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0) 溶解。提取的 DNA 可立即进行下一步实验或-20 $^{\circ}$ C 保存。

注：25 只果蝇成虫个体能得到约 200 μ g 的 DNA。

溶液配方

1. TE buffer (pH 8.0)
 - 10 mM Tris-HCl
 - 1 mM EDTA