杭 州 新 景 生 物 试 剂 开 发 有 限 公 司
地址：浙江省杭州市西湖科技经济园西园一路 8 号 4 幢 5F
邮编：310030 电话：0571-87381295 传真：0571-87381297

快速通用型基因组 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

快速通用型基因组 DNA 提取试剂盒 Cat. No.	5 次样品 3105005	50 次制备 3105050	250 次制备 3105250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 离心管	5 个	50 个	250 个
蛋白酶 K 贮存液	120 µl	1.2 ml	1.2 ml×5
Buffer GE	1.8 ml	18 ml	80 ml
Buffer PE	3 ml	30 ml	130 ml
Buffer WB（浓缩液）	3 ml	19 ml	50 ml×2
Buffer TE	3 ml	30 ml	150 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存与有效期

1. 蛋白酶 K 贮存液请置于－20℃储存。
2. 其他物品如果储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

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

产品介绍

本产品采用独特的裂解液配合蛋白酶 K 消化各种不同类型的生物样本，释放 DNA，再辅以独创的萃取技术快速去除生物样本中的蛋白水解产物、脂类、多糖、酚衍生物、色素等杂质。特别设计的核酸纯化柱能选择性地吸附萃取水相中的大片段 DNA，小片段核酸则被选择性地滤过除去。核酸纯化柱上吸附的 DNA 仅需用一种洗液洗涤 1~2 次即可获得多至 25 µg 的高纯度基因组 DNA。适用于 PCR、Southern 印迹分析、RAPD、RFLD 等分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管、移液器及吸头（为避免样品间的污染，推荐选用含有滤芯的移液器吸头）
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）
5. 水浴锅和旋涡振荡器
6. 可能需要 RNase A（50 mg/ml，Simgen Cat. No. 8001001）

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 将水浴锅温度设置到 56℃，并将 Buffer TE 温育至 56℃。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
4. 当室温低于 15℃时，使用 Buffer GE 和 Buffer PE 前应先观察试剂是否有沉淀产生，如有沉淀则应于 56℃水浴直至沉淀溶解后再使用。

操作步骤：

样本使用前处理

【从动物组织中提取基因组 DNA】

1. 用手术刀切取 20~50 mg 动物组织，再用刀尖将组织剁成匀浆状，转入一个洁净的 1.5 ml 离心管中。

* 下列组织请加液氮研磨至粉末状后，将研钵置于56℃水浴，当粉末开始融化时继续研磨1分钟，匀浆后加入200 µl Buffer TE和300 µl Buffer GE，继续研磨30秒混匀，吸取所有匀浆液转入一个洁净的1.5 ml离心管中再进入步骤3的操作。
富含DNA酶的胰脏，脾脏，胸腺，淋巴等组织。
富含胶原蛋白的皮肤、肌健等组织。
富含角质蛋白的组织或坚硬的组织如骨骼等。

2. 加入 150 µl Buffer TE、300 µl Buffer GE，旋涡振荡 30 秒混合均匀。

3. 加入 20 µl 蛋白酶 K 贮存液，56℃水浴 10 分钟。

* 未经液氮研磨的组织水浴10分钟后可能会残留有未被溶解的组织颗粒，并不影响后续操作，如果要提高DNA的得率，可延长水浴时间直至组织全部溶解后再进入下一步操作。

4. 加入 500 µl Buffer PE，用力摇晃 5~10 次形成乳浊液，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，最高速（≥12,000×g）离心 1 分钟。

【从植物组织中提取基因组 DNA】

1. 按下表称取适量的新鲜植物组织（若选用的是冷冻干燥的组织，则组织用量减半），剪成小块放入研钵中，加入液氮，使组织冷冻完全后，快速、用力研磨至粉末状。研磨时应间断加入液氮以防止组织融化，研磨充分后将研钵放入 56℃水浴至样品粉末刚开始融化。加入 300 µl Buffer TE，继续研磨 30 秒混匀。

样本类型	推荐用量
植物花或叶片	100-200 mg
植物根、茎、种子	≤ 240 mg

* 样品研磨应充分，否则严重影响基因组DNA的得率。

2. 转移 200 µl 研磨好的匀浆至 1.5 ml 离心管中，如匀浆体积不足 200 µl，补加 Buffer TE 至 200 µl。

* 若匀浆较为粘稠无法吸出，说明样本用量过多，可补加200 µl Buffer TE继续研磨混匀，然后再吸取200 µl匀浆进入下一步操作。

3. 加入 300 µl Buffer GE 和 20 µl 蛋白酶 K 贮存液，立即旋涡振荡 1 分钟混合均匀。56℃水浴 10 分钟。

* 不要将蛋白酶K贮存液直接加到Buffer GE中。
* 富含纤维的根/茎等组织或富含淀粉、蛋白质的种子等样品，可延长水浴时间至30分钟。

4. 加入 500 µl Buffer PE，用力摇晃 5~10 次形成乳浊液，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，最高速（≥12,000×g）离心 5 分钟。

【从培养细胞、淋巴细胞、全血或骨髓、骨头中提取基因组 DNA】

1a. 悬浮培养的动物细胞或新鲜分离的动物组织单细胞悬液

300×g 离心 5 分钟收集约 5×10⁶ 细胞，弃尽上清，加入 200 µl Buffer TE 悬浮细胞。

1b. 贴壁培养的细胞

弃培养上清，用胰酶消化并悬浮细胞，300×g 离心 5 分钟收集约 5×10⁶ 细胞。弃尽上清，加入 200 µl Buffer TE 悬浮细胞。

1c. 淋巴细胞

收集约 5×10⁶ 淋巴细胞，控制细胞悬液在 200 µl，如果细胞悬液小于 200 µl，补加 Buffer TE 至终体积为 200 µl。

1d. 血液或者骨髓

收集 200 µl 抗凝全血或者骨髓（EDTA 抗凝）。

1e. 骨骼

取 50-100 mg 敲碎的骨骼，移入研钵中研磨成匀浆状；加入 300 µl Buffer TE，继续研磨 30 秒混匀。吸取 200 µl 匀浆液至 1.5 ml 离心管中。

2. 加入 300 µl Buffer GE 和 20 µl 蛋白酶 K 贮存液。立即旋涡振荡 30 秒混合均匀。

* 不要将蛋白酶K贮存液直接加到Buffer GE中。

3. 56℃水浴 10 分钟。

4. 加入 500 µl Buffer PE，用力摇晃 5~10 次形成乳浊液，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，最高速（≥12,000×g）离心 1 分钟。

【从细菌中提取基因组 DNA】

1. 用 1.5 ml 离心管收集 3~5 ml 细菌培养物，加入 100 µl Buffer TE，旋涡振荡充分悬浮细菌。加入 100 µl 溶菌酶溶液（Simgen Cat. No. 8009500，用户自备），旋涡振荡约 15 秒混匀，37 ℃水浴 30 分钟。

* 某些二价阳离子会抑制溶菌酶的活性，如果细菌培养基中含有二价阳离子（如MRS培养基等），应在离心收集细菌后增加一次洗涤步骤：加入1 ml去离子纯水，旋涡振荡悬浮细菌后12,000×g离心30秒，弃去离子纯水，再加入100 µl Buffer TE，旋涡振荡充分悬浮细菌。

* 溶菌酶溶液配制方法：按每100 mg溶菌酶加入1 ml去离子纯水的比例配制成100 mg/ml的溶菌酶溶液。

* 溶菌酶溶液冻融后会严重降低溶菌效率，请尽量使用新鲜配制的或冻融不超过一次的溶菌酶溶液。

2. 加入 300 µl Buffer GE 和 20 µl 蛋白酶 K 贮存液。立即旋涡振荡 30 秒混合均匀。

* 不要将蛋白酶K贮存液直接加到Buffer GE中。

3. 56℃水浴 10 分钟。

4. 加入 500 µl Buffer PE，用力摇晃 5~10 次形成乳浊液，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，最高速（≥12,000×g）离心 1 分钟。

【从酵母中提取基因组 DNA】

1. 收集过夜培养的酵母菌 5~10 ml 菌液，弃尽上清。加入 100 µl Buffer TE，勿弃吸头，直接用吸头吹打菌体沉淀，并将其吸出转入研钵中。倒入液氮浸没菌液（菌液碰到液氮后会立即凝集成块），用力研磨直至菌块呈粉末状。

* 如果用1.5 ml离心管收集酵母，可以按12000 rpm离心30秒的条件多次离心富集菌体。

* 如果菌块未能研磨成粉末状，应补加液氮继续研磨，否则将严重影响最终DNA的回收效率。

* 在没有液氮的条件下，可采用直接研磨约15分钟左右充分破坏细胞壁，在此过程中如果液体被蒸发掉，补加100 µl Buffer TE继续研磨。

2. 当研成粉末状的酵母开始融化时，向研钵中加入 100 μl Buffer TE 和 2 μl RNase A（Simgen Cat. No. 8001001，用户自备），继续研磨数次，将裂解物转入 1.5 ml 离心管中，56℃水浴 5 分钟。

* 如果裂解物少于 200 μl，补加 Buffer TE 至 200 μl。

3. 加入 300 μl Buffer GE 和 20 μl 蛋白酶 K 贮存液，旋涡振荡 30 秒混匀，56℃水浴 20 分钟。水浴期间每隔 2~3 分钟翻转离心管数次以帮助 DNA 的释放。

* 不要将蛋白酶 K 贮存液直接加到 Buffer GE 中。

4. 加入 500 μl Buffer PE，用力摇晃 5~10 次形成乳浊液，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，最高速（≥12,000×g）离心 1 分钟。

【从粪便中提取基因组 DNA】

1. 用 1.5 ml 离心管收集 30~50 mg 粪便，加入 150 μl Buffer TE，旋涡振荡直至粪便颗粒全部悬浮。

* 如果粪便呈液态，则直接吸取 50 μl 粪便；如果从小鼠粪便中提取 DNA，可在加入 150 μl Buffer TE 后用研磨棒（Simgen Cat. No. D-050，用户自备）研碎粪便颗粒。

2. 加入 300 μl Buffer GE 和 20 μl 蛋白酶 K 贮存液。立即旋涡振荡 30 秒混合均匀。

* 不要将蛋白酶K贮存液直接加到Buffer GE中。

3. 56℃水浴 10 分钟。
4. 加入 500 μl Buffer PE，用力摇晃 5~10 次形成乳浊液，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，最高速（≥12,000×g）离心 1 分钟。

后续相同的操作步骤

5. **吸取所有上清液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中），盖上管盖，12,000×g 离心 30 秒。**

* 宁可少吸取部分上清液也不要吸取相间沉淀物，沉淀物会严重影响最终 DNA 的纯度。

6. **弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 800 μl Buffer WB，盖上管盖，12,000×g 离心 30 秒。**

* 滤液无需彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

7. **弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 300 μl Buffer WB，盖上管盖，最高速（≥12,000×g）离心 1 分钟。**
8. **弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 100~200 μl 56℃温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12,000×g 离心 30 秒。**

* 注意取出核酸纯化柱时不要让滤液触及核酸纯化柱底部，如果核酸纯化柱沾染有滤液，请弃尽滤液重新将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中最高速空离 1 分钟，再取出核酸纯化柱进行此操作步骤。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8,000×g 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

9. **弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于－20℃备用。**