

CAT#: GZ010403



通用型基因组 DNA 提取试剂盒

Universal Genomic DNA Purification Kit

(离心柱型)

使用手册 V2.0

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

💡 产品及特点

本试剂盒适合于从新鲜或冷冻的动物组织，细胞，血液，细菌等多种样品中提取高纯度总 DNA。本品可纯化获得分子量最大为 50kb 的 DNA 片段，纯化过程不需要使用苯酚或氯仿等有毒溶剂，无需乙醇沉淀。本试剂盒采用优化的缓冲体系使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可得到高纯度 DNA。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切，PCR，Real-Time PCR，文库构建，Southern Blot，它具有下列特点：

1. 简便快速：1 小时内可获得高纯度的基因组 DNA；
2. 质量好：可直接进行 PCR、酶切和杂交等分子生物学实验。

📋 成分规格

产品组成	GZ010403-50	GZ010403-100	GZ010403-200
Buffer GTL	12 ml	25 ml	50 ml
Buffer GL	12 ml	25 ml	50 ml
Buffer W1 (concentrate)	13 ml	26 ml	52 ml
Buffer W2 (concentrate)	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer EB	10 ml	10 ml	30 ml
Proteinase K	1 ml	2×1 ml	4×1 ml
Spin Column with Collection Tubes	50 套	100 套	200 套

✈️ 保存条件

蛋白酶 K 于 -20℃，其他组分室温（15 - 30℃）。

🧪 使用方法

【自备试剂】

无水乙醇

Enzymatic Lysis Buffer（提取革兰氏阳性菌基因组 DNA 时须准备）。Enzymatic Lysis Buffer 配方：20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton X-100; 终浓度为 20mg/ml

的 Lysozyme（溶菌酶）。

一、血液及细胞样本基因组提取

1. 材料处理

- 1) 如果提取材料为哺乳动物抗凝血液（无核红细胞），可直接向 50-200 μ l 新鲜或冷冻的抗凝血液样品中加入 Buffer GTL 补足至 200 μ l。
- 2) 如果提取材料为禽类，鸟类，两栖类或更低级生物的抗凝血液，其红细胞为有核细胞，取 5-10 μ l 新鲜或冷冻的抗凝血液样品，加入 Buffer GTL 补足至 200 μ l。
- 3) 贴壁培养的细胞应先处理为细胞悬液（最大提取量为 5×10^6 个细胞），2000 rpm（400g）离心 5min，弃尽上清，加 200 μ l GTL，振荡至样品彻底悬浮。

（注意：如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4 μ l 浓度为 100mg/ml 的 RNase A 溶液，涡旋 15 秒，室温放置 2min。）

2. 加入 20 μ l Proteinase K 溶液,混匀。

3. 加入 200 μ l Buffer GL，涡旋振荡充分混匀，56 $^{\circ}$ C 水浴 10min。

4. 短暂离心以去除管盖内壁的水珠。加入 200 μ l 无水乙醇，涡旋振荡充分混匀，短暂离心。

（注意：加入 Buffer GL 和无水乙醇后要立即涡旋震荡混匀。加入 Buffer GL 和无水乙醇后可能会产生白色沉淀，不会影响后续实验。一些组织在加入 Buffer GL 和无水乙醇后可能形成溶胶状产物，此时推荐进行剧烈震荡或涡旋处理。）

5. 上一个步骤中所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns DM）中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm（约 13,400g）离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer W1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer W2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

（注意：如需进一步提高 DNA 纯度，可重复步骤 7。）

8. 12,000 rpm 离心 2min，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

（注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶切、PCR 等酶促反应）。

9. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空加入 50-200 μ l Buffer EB 或灭菌水，室温放置 2-5min，12000rpm 离心 1min，收集 DNA 溶液， -20°C 保存 DNA。

（注意：为增加洗脱效率，可将洗脱液 Buffer EB 在 60°C 预热。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 - 8.5 之间，为了增加回收率，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置 2 min，再次离心收集）

二、动物组织基因组提取

1. 材料处理

如果提取材料为动物组织，取 25 mg（脾组织用量应少于 10 mg）；如果材料为鼠尾，取一段长度为 0.4-0.6 cm 的大鼠鼠尾或两段长度为 0.4-0.6 cm 的小鼠鼠尾。样本进行液氮研磨或切成小块后置于 1.5 ml 离心管中，加入 180 μ l Buffer GTL，将不同样品做好标记。若使用匀浆器处理样本，匀浆前向样本中加入不超过 80 μ l Buffer GTL，匀浆后加入 100 μ l Buffer GTL。

（注意：1）确保各组织的量不要超出推荐范围。2）组织样本在加入 Buffer GTL 之前用液氮研磨或加入 Buffer GTL 用匀浆器匀浆处理，可以增加裂解效率。）

2. 加入 20 μ l Proteinase K，涡旋震荡使样品彻底混匀。 56°C 水浴，直至组织完全裂解，孵育过程中可每隔一段时间颠倒或震荡离心管使样品分散。

（注意：1）不同组织消化时间不同，通常 1-3 小时即可完成，鼠尾需要消化 6-8 小时，必要时过夜消化，不会影响后续操作。2）如果孵育和涡旋震荡后仍然有胶状物质，延长 56°C 孵育时间或再加入 20 μ l Proteinase K 消化。3）如需去除 RNA，可在上述步骤完成后，加入 4 μ l 的浓度为 100mg/ml 的 RNase A 溶液，涡旋 15 秒，室温放置 5-10min。）

3. 加入 200 μ l Buffer GL，涡旋震荡充分混匀， 70°C 水浴 10min。短暂离心后加入 200 μ l 无水乙醇，涡旋震荡充分混匀。

（注意：1）加入 Buffer GL 和无水乙醇后要立即涡旋震荡混匀。

2）加入 Buffer GL 和无水乙醇后可能会产生白色沉淀，不会影响后续实验。一些组织（如脾，肺）在加入 Buffer GL 和无水乙醇后可能形成溶胶状产物，此时推荐进行剧烈震荡或涡旋处理。）

4. 短暂离心，将步骤 3 所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns DM）中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm（约 13,400g）离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

5. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer W1 (使用前检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer W2 (使用前检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
(注意: 如需进一步提高 DNA 纯度, 可重复步骤 6。)
7. 12,000 rpm 离心 2min, 倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。
(注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶切, PCR 等酶促反应)。
8. 将吸附柱置于一个新的离心管(自备)中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 50-200 μ l Buffer EB 或灭菌水, 室温放置 2-5min, 12,000 rpm 离心 1min, 收集 DNA 溶液, -20°C 保存 DNA。
(注意: 为增加洗脱效率, 可将洗脱液 Buffer EB 在 60°C 预热。如需使用去离子水洗脱, 可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 - 8.5 之间, 为了增加回收率, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 室温放置 2 min, 再次离心收集)

三、细菌基因组提取

1. 细菌样本预处理

取 1 - 3 ml 过夜培养的菌液, 室温 10,000 rpm 离心 1 min, 弃上清。

(注意: 根据菌液的浓度决定取液量, 当 $\text{OD}_{600}=1$ 时, 1ml 菌液浓度为 10^9 个细胞, 菌液的量不要超过 10^9 个细胞, 太多会使离心柱的膜堵塞, 提取的基因组 DNA 的量减少, 纯度降低)

2. 加入 200 μ l Buffer GTL, 用枪头充分吹打或用涡旋振荡器充分悬浮。

(注意: 对于较难破壁的革兰氏阳性菌, 可略过第 2 步骤, 加入溶菌酶进行破壁处理, 具体方法为: 加入 180 μ l 终浓度为 20 mg/ml 的溶菌酶缓冲液(20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM $\text{Na}_2\text{-EDTA}$; 1.2% Triton X-100; 溶菌酶必须用溶菌酶干粉溶解在缓冲液中进行配制, 否则会导致溶菌酶无活性), 37°C 处理 30 min 以上。如要去除 RNA, 可加入浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 4 μ l, 室温处理 5 min)

3. 加入 20 μ l Proteinase K 溶液, 充分混匀。

4. 加入 200 μ l Buffer GL, 充分混匀, 56°C 水浴 10 min, 孵育过程中每隔一段时间颠倒或震荡离心管使样本分散均匀。溶液变得清亮后短暂离心, 以去除管盖内壁的水珠。

(注意: Buffer GL 加入时可能会产生白色沉淀, 一般 56°C 时会消失, 不影响后续实验, 如溶液未变清亮, 说明细胞裂解不彻底, 可能导致提取的 DNA 量少或者提取的 DNA 不纯)

5. 加入 200 μ l 无水乙醇，充分震荡，此时可能会出现絮状沉淀，短暂离心以去除管盖内壁水珠。
6. 将一个离心吸附柱放入收集管中，将上一步所得溶液和絮状沉淀转移到吸附柱中，12,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中的滤液。
7. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer W1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer W2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
(注意：如需进一步提高 DNA 纯度，可重复步骤 6。)
9. 12,000 rpm 离心 2min，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。
(注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶切、PCR 等酶促反应)。
10. 将离心吸附柱置于一个新的 1.5 ml 塑料离心管（自备）中，加入 50 - 100 μ l Buffer GE，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，离心管底溶液即基因组 DNA。
(注意：为增加洗脱效率，可将洗脱液 Buffer EB 在 60 $^{\circ}$ C 预热。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 - 8.5 之间，为了增加回收率，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置 2 min，再次离心收集)

注意事项

- 如 Buffer GTL 和 Buffer GL 产生沉淀，可在 56 $^{\circ}$ C 水浴溶解；
- 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段小，提取量下降；
- 所有离心步骤均为台式离心机，室温下操作；
- 按要求在 Buffer W1 和 Buffer W2 中加入无水乙醇。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ070104	6 $\times$ Loading Buffer
GZ070105	50 $\times$ TAE
GZ070106	10 $\times$ TBE
GZ020101-1	2 $\times$ Taq PCR MasterMix（含染料）

GZ020701-1	2 × Probe qPCR Mix
GZ020801-1	2×SYBR qPCR Mix
GZ010201-50	细菌基因组 DNA 提取试剂盒
GZ010401-50	动物组织基因组 DNA 提取试剂盒
GZ010501-50	培养细胞基因组 DNA 提取试剂盒
GZ070303	溶菌酶,50mg/ml



关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯