

## 离心柱法通用基因组 DNA 提取试剂盒 使用说明书

### 【产品介绍】

本试剂盒通过特异裂解液配合蛋白酶 K 处理培养细胞、动/植物组织、丝状真菌及粗加工产品等样品后，使其中的基因组 DNA 特异吸附于离心柱上，洗涤除杂后洗脱得到纯净的 DNA。所得基因组 DNA 可用于 PCR、qPCR 等下游分子生物学实验。

### 【特点】

有效去除蛋白质、多糖、脂类等杂质，所得纯化产物产量大、纯度高。

### 【试剂盒组成】

组分	目录号 CP-010-0 (50 次)	目录号 CP-010-1 (50 次)
裂解液	10 mL	10 mL
结合液	22 mL	22 mL
洗液 1	30 mL	30 mL
洗液 2 (使用前需加无水乙醇)	20 mL	20 mL
洗脱液	12 mL	12mL
RNase A 溶液 (10 mg/mL)	/	250 $\mu$ L
蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	1 mL	1 mL
离心柱 (含收集管)	50 个	50 个
离心管 (1.5 mL)	/	50 个

### 【保存条件及有效期】

RNaseA、蛋白酶 K 溶液到货后保存于-20  $^{\circ}$ C，试剂盒其它成分置于室温干燥处保存，有效期：12 个月。

### 【操作步骤】

✧ 使用前添加 80 mL 无水乙醇到洗液 2 中，并做好标记。

✧ 预先调金属浴或水浴至 56  $^{\circ}$ C。

#### 1. 样本处理及裂解

##### A. 动物组织：

- 液氮研磨：灭菌刀片或剪刀将样品切成小块儿后，液氮研磨成粉末，取 5 - 30 mg 液氮研磨后组织样品粉末加入 1.5 mL 干净离心管中，加入 350  $\mu$ L PBS (pH 7.4) 或灭菌水，小心吹吸混匀。
- 切碎：用灭菌后的刀片或剪刀充分破碎组织样品，取 5 - 30 mg 加入 1.5 mL 干净离心管中，加入 350  $\mu$ L PBS (pH 7.4) 或灭菌水充分振荡混匀。

注：如需去除 RNA 残留，可在样品溶液中加入 5  $\mu$ L RNase A 溶液，涡旋混匀后室温静置 2 分钟。

裂解步骤：在样品溶液中加入 150  $\mu$ L 裂解液和 20  $\mu$ L 蛋白酶 K 溶液，涡旋混匀 30 秒，56  $^{\circ}$ C 加热至溶液透亮、无可见碎块状组织（根据前处理的和组织差异一般为 10 - 60 分钟），期间可多次涡旋混匀加速裂解。

##### B. 植物或丝状真菌：

- 干燥种子：用小型研磨仪将种子研磨成干粉，取 100 - 200 mg，加入 450  $\mu$ L PBS (pH7.4) 或灭菌水，涡旋混匀 30 秒。

- 植物根系、叶片或菌丝：在 1.5 mL 干净离心管中加入液氮研磨好的植物组织或丝状真菌样品 20 - 200 mg，加入 450  $\mu$ L PBS (pH7.4) 或灭菌水，涡旋混匀 30 秒。

注：如需去除 RNA 残留，可在样品溶液中加入 5  $\mu$ L RNase A 溶液，涡旋混匀后室温静置 2 分钟。

裂解步骤：在样品溶液中加入 150  $\mu$ L 裂解液和 20  $\mu$ L 蛋白酶 K 溶液，涡旋混匀 5 分钟，56  $^{\circ}$ C 金属浴或水浴加热 15 分钟，期间可涡旋混匀 3 - 5 次促进样品充分裂解。孵育结束后将样品置于 12000  $\times$ g 离心 3 分钟，将  $\leq 500$   $\mu$ L 上清液转移到一新的 1.5 mL 干净离心管中。

#### C. 培养细胞

- 悬浮细胞：将  $10^3$  -  $10^6$  数量级的悬浮细胞培养液 250  $\times$ g 离心 5 分钟，弃上清，收集细胞沉淀，加入 350  $\mu$ L PBS (pH 7.4) 或灭菌水，枪头吹吸重悬细胞后，涡旋振荡 30 秒。
- 贴壁细胞：弃去大部分培养液，用灭菌的刮刀或者灭菌枪头将细胞刮到剩余培养液中，之后将其转至离心管中 250  $\times$ g 离心 5 分钟，收集细胞沉淀，加入 350  $\mu$ L PBS (pH7.4) 或灭菌水，枪头吹吸重悬细胞后，涡旋振荡 30 秒。

注：如需去除 RNA 残留，可在样品溶液中加入 5  $\mu$ L RNase A 溶液，涡旋混匀后室温静置 2 分钟。

裂解步骤：在样品溶液中加入 150  $\mu$ L 裂解液和 20  $\mu$ L 蛋白酶 K 溶液，涡旋混匀 30 秒，56  $^{\circ}$ C 金属浴或水浴加热 10 分钟，期间可涡旋混匀 3 - 5 次加速裂解。

#### D. 粗加工产品

- 干燥块状或粉末类：研磨成粉末后，取 5-30 mg 干粉，加入 350  $\mu$ L PBS (pH 7.4) 或灭菌水，小心吹吸混匀。
- 含水块状类：灭菌刀片或剪刀将样品切成小块儿后，液氮研磨成粉末，之后取 5 - 30 mg 粉末，加入 350  $\mu$ L PBS (pH 7.4) 或灭菌水，小心吹吸混匀。

注：如需去除 RNA 残留，可在样品溶液中加入 5  $\mu$ L RNase A 溶液，涡旋混匀后室温静置 2 分钟。

裂解步骤：在样品溶液中加入 150  $\mu$ L 裂解液和 20  $\mu$ L 蛋白酶 K 溶液，涡旋混匀 30 秒，56  $^{\circ}$ C 金属浴或水浴加热 10 分钟（观察溶液性状，溶液清透亮泽时裂解效果好，否则可适当延长加热时间），期间可涡旋混匀 3 - 5 次加速裂解。

2. 在样品裂解液中加入 350  $\mu$ L 结合液（此时会有白色沉淀产生），涡旋混匀 30 秒，12000  $\times$ g 离心 5 分钟。
3. 将上清液全部转移至离心柱中（避免吸到沉淀），12000  $\times$ g 离心 1 分钟，弃流出液，将离心柱放回收集管中。
4. 在离心柱中加入 500  $\mu$ L 洗液 1，12000  $\times$ g 离心 1 分钟，弃流出液，将离心柱放回收集管中。
5. 在离心柱中加入 700  $\mu$ L 洗液 2（使用前确认已加入无水乙醇），12000  $\times$ g 离心 1 分钟，弃流出液，将离心柱放回收集管中。
6. 重复步骤 5。
7. 将上一步的空离心柱 15000  $\times$ g 离心 2 分钟，彻底去除残留洗液。
8. 将离心柱置于一干净 1.5 mL 离心管中，开盖晾干 3 - 5 分钟，尽量挥发残留在膜上的乙醇。
9. 在离心柱的中央加入 50 - 200  $\mu$ L 预热洗脱液（65  $^{\circ}$ C），室温静置 1 分钟，12000  $\times$ g 离心 1 分钟，弃离心柱。所得 DNA 于 -20  $^{\circ}$ C 保存。

#### 【使用注意】

- 为避免产物污染或降解，建议使用干净、无核酸酶污染的器械或耗材。
- 溶液使用前尽量充分混匀，同时注意避免溶液间交叉污染。
- 样品用量不宜过多，以免影响提取效果。
- 为保证所提取 DNA/RNA 的质量，使用新鲜的样品，避免反复冻融。
- 根据样本用量适当增减洗脱液用量，为得到更多基因组 DNA，可将步骤 9 后离心柱放回离心管中，进行二次洗脱。