

SteadyPure 通用型基因组DNA提取试剂盒

Code No. AG21009

SteadyPure Universal Genomic DNA Extraction Kit

包装量: 50 rxns
保存温度: Package 2-1 -20°C
Package 2-2 RT (15-25°C)

产品概述

SteadyPure 通用型基因组DNA提取试剂盒是一种可从多种样本中快速、简便提取基因组 DNA 的产品。使用本试剂盒提取所得的基因组DNA 溶解于水或者 Tris 缓冲液中，可直接用于PCR扩增、DNA 序列分析等。

安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请佩戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

注意：使用后溶液需要收集在废液桶中专门处理。

如果缓冲液不小心溅出，请立刻用大量清水冲洗，然后用浓度为1%的次氯酸钠溶液清洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

产品组成

Proteinase K (20 mg/ml) *1	1 ml
RNase A (10 mg/ml) *1	500 μl
Buffer LS-2	9 ml
Buffer BS-2	10 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB *2	27 ml
Elution Buffer	20 ml
Universal DNA Mini Columns	50 套
Collection tubes	50 支

*1 此两种组分包装于 Package 2-1中，需放置于 -20°C 保存；其余组分均包装于Package 2-2 中，室温 (15-25°C) 保存。

*2 Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的 100% 乙醇 (Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3:7)，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

实验前准备

- 1) 无水乙醇、PBS、灭菌水、1.5 ml 离心管、水浴。
- 2) Buffer LS-2 若出现沉淀，请于50-60°C加热溶解，待溶液恢复至室温后使用。
- 3) 洗脱结合于 DNA 制备膜上的基因组 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50-65°C使用，将会提高 DNA 的洗脱效率。

保存及运输

保存温度：Package 2-1 于 -20°C 保存；

Package 2-2 室温 (15-25°C) 保存 (温度较低时有的组分会出现沉淀，使用前可以 37°C 加热直至沉淀消失，然后使用)

运输温度：Package 2-1 使用干冰或-20°C冰袋运输；

Package 2-2 于室温运输。

注意事项

- 1) 应尽量使用新鲜的实验材料，以确保提取的基因组 DNA 不被降解。
- 2) 使用液氮研磨组织材料时，应随时加入液氮，以确保提取的基因组 DNA 不被降解。
- 3) 基因组 DNA 需长期保存时，建议用 Elution Buffer 溶出。
- 4) 组织材料切勿超过最大起始量，且要充分裂解，否则可能影响收量，甚至会堵塞 Mini Column。如果样本量较大，请适量增加试剂用量或使用多个 Mini Columns 进行纯化操作。
- 5) 如果组织裂解后过于粘稠，可再次添加相同体积的 Buffer LS-2、Proteinase K 和 RNase A，继续裂解。
- 6) 洗脱结合于 DNA 制备膜上的基因组 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50-65°C 使用，将会提高 DNA 的洗脱效率。

操作流程

全血的裂解：

- ◆ 取 1~10 μl 全血（有核红细胞含抗凝剂）或 20~200 μl 全血（无核红细胞含抗凝剂）加入至 2 ml Tube 中，用 PBS 或灭菌水补至 200 μl 。
- ◆ 向上述血液样本中加入 180 μl 的 Buffer BS-2、20 μl 的 Proteinase K 和 10 μl 的 RNase A（10 mg/ml），充分吸打混匀，然后 56°C 水浴 10 分钟进行细胞裂解。
- ◆ 向裂解液中加入 200 μl 100% 乙醇，充分吸打混匀。



样本裂解处理

动、植物组织的裂解：

- ◆ 取 2~25 mg 的动物组织或 25~100 mg 植物组织和其他组织样本（切勿使用超过最大起始量的组织），置于 2 ml tube 中，用剪刀尽可能地剪成碎块，对于一些质地坚硬的组织也可以进行液氮研磨。
- ◆ 加入 180 μl 的 Buffer LS-2、20 μl 的 Proteinase K 和 10 μl 的 RNase A（10 mg/ml），于 56°C 水浴温浴至组织完全裂解。（需要约 2~3 小时，难裂解的材料可以适当延长裂解时间甚至过夜裂解。植物材料可能残存纤维状组织无法完全裂解，裂解之后先 12,000 rpm 离心 2 分钟，去除杂质之后再行后续操作。）（注：温浴时，可时常将样品取出进行振荡或吸打以加速裂解。）
- ◆ 向裂解液中加入 200 μl Buffer BS-2 和 200 μl 100% 乙醇，充分吸打混匀。

E. coli 等革兰氏阴性菌的裂解：

- ◆ 12,000 rpm 离心 2 分钟收集约 $1.0\sim 5.0 \times 10^9$ 的细胞，弃上清。
- ◆ 向沉淀中加入 180 μl 的 Buffer LS-2、20 μl 的 Proteinase K 和 10 μl 的 RNase A（10 mg/ml），充分吸打混匀至溶液中没有小菌块，于 56°C 水浴加热 10 分钟至溶液完全裂解成澄清透明状态。
- ◆ 向上述裂解液中加入 200 μl 的 Buffer BS-2 和 200 μl 100% 乙醇，充分吸打混匀。

悬浮培养的动物细胞的裂解：

- ◆ 5,000 rpm 离心 5 分钟收集 $1.0 \times 10^5\sim 1.0 \times 10^7$ 的细胞悬浮液，弃上清。向离心管中加入 200 μl 的 PBS 或灭菌水悬浮细胞。
- ◆ 向悬浮液中加入 180 μl 的 Buffer BS-2、20 μl 的 Proteinase K 和 10 μl 的 RNase A（10 mg/ml），充分吸打混匀，于 56°C 水浴加热 10 分钟至溶液完全裂解澄清透明状态。
- ◆ 向上述裂解液中加入 200 μl 100% 乙醇，充分吸打混匀。

贴壁细胞的裂解：

- ◆ 弃尽培养液，向每 10 cm^2 的贴壁细胞中加入 1 ml PBS 液冲洗细胞，用移液枪的枪头吹落贴壁培养细胞，或使用细胞刮收集细胞，然后转移至 1.5 ml Tube 中，5,000 rpm 离心 5 分钟，弃上清，加入 200 μl 的 PBS 或灭菌水悬浮细胞。
- ◆ 加入 180 μl Buffer BS-2、20 μl 的 Proteinase K 和 10 μl 的 RNase A（10 mg/ml），收集细胞悬液，充分吸打混匀，于 56°C 水浴加热 10 分钟至溶液完全裂解澄清透明状态。
- ◆ 向裂解液中加入 200 μl 100% 乙醇，充分吸打混匀。

1) 将上述溶液转移至 *Universal DNA Mini Column* 中，室温静置 1 min 后，室温下 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。



离心、弃滤液

2) 向 Mini Column 中加入 500 μl 的 Buffer WA，室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。

3) 向 Mini Column 中加入 750 μl 的 Buffer WB，室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。

注) 请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。

4) 重复步骤 3) 一次。

5) 将 Mini Column 安置于新的 2.0 ml Collection Tube 上，室温 12,000 rpm 离心 2 分钟。



Buffer WA 洗一次

Buffer WB 洗两次

6) 将 Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管上，在 Mini Column 膜的中央处加入 50 μl Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 5 分钟，然后室温 12,000 rpm 离心 2 分钟洗脱 DNA。

（注：将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50~65°C 使用时有利于提高洗脱效率；如果想要获得更大收量的 DNA，可以将步骤 6) 中的洗脱液再次加入柱子中进行洗脱。）



50 μl 洗脱液、离心

详细信息请查阅 <https://www.agbio.com.cn>