



硅胶膜型基因组 DNA 提纯试剂盒

操作方法

- 1 将 0.5~1ml 全血 13,000rpm 离心 2 分钟，小心弃去上清（血浆），收集沉淀。
- 2 加入 100 μ l TE 缓冲液，振荡混匀。加入 1ml GN 结合液，轻柔颠倒混匀。
- 3 将混和液小心转入离心纯化柱，静置至少 3 分钟。13,000rpm 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液。
- 4 将剩下的混和液也转入离心纯化柱，重复第 3 步。
- 5 用 0.5ml 漂洗液洗 2~3 次，13,000rpm 离心 30 秒。
- 6 将漂洗完毕的离心纯化柱再离心 1 分钟，彻底去除残留漂洗液。
- 7 将离心纯化柱套入一个干净的 1.5ml 离心管中，开盖放置 2~3 分钟使漂洗液挥发，加入 100 μ l TE 缓冲液于硅胶膜上（不能粘在管壁上），静置 2 分钟后 13,000rpm 离心 1 分钟。TE 溶液的用量视用户对 DNA 浓度的要求而定。离心柱放入离心管中，若盖不上盖子，亦没有关系，可开盖离心。
- 8 将洗脱液重又吸入离心纯化柱中，再洗脱一次。这样可以获得较高产量的基因组DNA。
- 9 离心管中收集的液体即是洗脱下来的基因组DNA，取 2 μ l 电泳（1%琼脂糖，120V，20 分钟）检测。

补充说明

本系统不仅用于从全血中快速提纯基因组 DNA，而且还可以从细菌培养液、动物组织培养细胞、动物组织、植物细胞中提纯基因组 DNA。

从细菌培养液中提纯基因组 DNA

对于革兰氏阴性菌，将 1.5ml 培养过夜的菌液（约 5×10^6 培养细胞）13,000rpm 离心 30 秒，收集菌体，将菌体悬浮于 0.5ml PBS 缓冲液或 TE 缓冲液中，然后与 1ml GN 结合液混匀。后续实验操作与从全血中提纯基因组 DNA 的操作方法相同。

对于革兰氏阳性菌，由于革兰氏阳性菌细胞壁比较厚，肽聚糖含量很高，破壁比较困难，从而影响基因组 DNA 的得率，甚至提纯失败。因此，对于革兰氏阳性菌要进行特殊的破壁处理。将 1.5ml 菌液（收集过多会影响破壁效果）离心收集菌体，将菌体重悬于 400 μ l 50mM EDTA 溶液中，加入 50 μ l 溶菌酶（100mg/ml）（溶菌酶的质量和浓度会影响破壁效果）混匀，37 $^{\circ}$ C 温浴 30~60 分钟，其间缓慢摇动，然后加入 250 μ l STEP 溶液，50 $^{\circ}$ C 缓慢摇动



至少 2 小时。后续实验操作与从全血中提纯基因组 DNA 的操作方法相同。若



离心管容量不够可分两管操作。葡萄球菌株要用溶葡萄球菌素（Malatesta M.L.et.al.,1992, Biotechniques 12,70）处理，处理这类菌株一般不能仅用溶菌酶。为使革兰氏阳性菌株有效裂解，建议将这两种酶混合使用。

从动物组织（肝脏、脾脏、脊髓等）与动物组织培养细胞中提纯基因组 DNA

对于动物组织，将约 20mg~50mg 的动物组织置于匀浆器中，用 1ml GN 结合液使其匀浆化；或者用液氮将约 20mg~50mg 的动物组织研磨为细粉后，与 1ml GN 结合液混匀。后续实验操作与从全血中提纯基因组 DNA 的操作方法相同。

对于动物组织培养细胞，将 1.5ml 培养细胞（约 5×10^6 培养细胞）13,000rpm 离心 30s，收集培养细胞，将培养细胞重悬于 500 μ l PBS 缓冲液或 TE 缓冲液中，与 1ml GN 结合液混匀。后续实验操作与从全血中提纯基因组 DNA 的操作方法相同。

从植物细胞中提纯基因组 DNA

将约 50mg~100mg 的植物组织置于预冷匀浆器中，用 0.5ml CTAB 萃取缓冲液使其匀浆化；或者用液氮将 50mg~100mg 的植物组织研磨为细粉，转移到已预热至 65 $^{\circ}$ C 的 0.5ml CTAB 萃取缓冲液中。65 $^{\circ}$ C 温浴 15~20 分钟，其间颠倒混匀几次，然后与 1ml GN 结合液混匀。后续实验操作与从全血中提纯基因组 DNA 的操作方法相同。

缓冲液的配制

TE 缓冲液：总体积 100ml

将 1ml 1mol/L Tris-HCl (pH7.6) 和 0.2ml 0.5mol/L EDTA (pH8.0) 混匀，补超纯水至 100ml，高压灭菌，室温保存。

PBS 缓冲液：总体积 100ml

在 80ml 超纯水中溶解 0.8g NaCl、0.02g KCl、0.144g Na₂HPO₄ 和 0.024g KH₂PO₄，用 HCl 调节溶液的 pH 值至 7.4，补超纯水至 100 ml，高压灭菌，室温保存。

CTAB 萃取缓冲液：总体积 100ml

将 10ml 1mol/L Tris-HCl (pH7.6)，14ml 5mol/L NaCl，4.0ml 0.5mol/L EDTA (pH8.0)，1g DTT 和 1g CTAB 混匀，补超纯水至 100ml，过滤灭菌，室温保存。

STEP 溶液：

SDS	0.5%
Tris-HCl (pH8.0)	150mM
EDTA	400mM
蛋白酶 K	0.25mg/mL



常见问题及参考意见

常见问题	可能原因	参考意见
血样中存在血凝块	未加抗凝剂	去除血凝块，将全血混匀
		采血后，立即用 EDTA、肝素或柠檬酸钠等各种抗凝剂处理血样
基因组 DNA 产量低	血样中白细胞数太低	重新收集血样
	血样保存的时间过长	最好从新鲜血样中抽提 DNA
	GN 结合液有结晶出现	将 GN 结合液置于 37℃温浴 30min 以上，使结晶完全溶解，且在使用前要充分混匀
	洗脱温度过低	加入无菌超纯水或 TE 浸透树脂后，于 37℃温浴 2 分钟
基因组 DNA 被降解	核酸酶污染	用无菌超纯水或 TE 洗脱基因组 DNA，于 -20℃保存备用
		使用灭菌的玻璃及塑料制品
	血样的收集与保存存在问题	最好收集新鲜血样抽提基因组DNA 加入抗凝剂后，4℃保存不要超过 2 周。若要长期保存，置于-20℃
基因组 DNA 在下游实验中出现问 题（如 PCR 失败）	盐的浓度太高	用 80%乙醇漂洗基因组DNA 1~2 次
	残留有有机试剂	增加离心时间，将乙醇或异丙醇去除干净
	蛋白质未去除干净	增加漂洗次数

北京赛百盛基因技术有限公司

全国统一热线：400 666 3029

地址：北京市海淀区上地四街 1 号院 2 号楼 202 室 邮编：100085

电话：010-62969345/46, 010-82784296/92 传真：010-82784290

Email: info@sbsbio.com

<http://www.sbsbio.com>