



版本号: 2310

# GenePrep Genomic DNA Kit

## GenePrep 基因组DNA小量试剂盒

(离心柱型)

目录号: GNP-05-50

### 产品内容

组分	GNP-05-50	备注
制备次数	50 次	/
吸附柱CG1	50	吸附柱
2 ml 离心管	100	处理管
1.5 ml 离心管	50	收集管
RNase A	60 $\mu$ l	50 mg/ml
Buffer GA	9 ml	裂解液
Proteinase K	20 mg/ml	蛋白酶K溶液
Buffer GB	25 ml	蛋白去除液
Buffer W1	30 ml	洗涤液
Buffer W2	24 ml	去盐液
Buffer Eluent	12 ml	洗脱液
说明书	1	/

### 储存条件

该试剂盒置于室温（15-30°C）干燥条件下，可保存18个月。若溶液产生沉淀，可在37°C温浴加热至沉淀完全溶解，不影响效果。

Proteinase K 溶解液请置于2-8 °C保存，保存时间可达2个月，勿长时间保存于室温中。

## 产品简介

本试剂盒采用独特的裂解和蛋白酶K消化技术，提取多种细胞/组织中的基因组DNA。运用吸附柱硅基团特异吸附基因组DNA的原理，达到去除杂质蛋白及其它有机化合物等杂质，提取的基因组DNA片段完整，纯度高。本试剂盒提取的基因组DNA用于PCR、Southern印迹分析、RAPD、RFLD和文库构建等分子生物学实验。

## 操作步骤

### 1. 处理材料

#### 【从组织中提取基因组DNA】

按下表称取适量的新鲜动物或植物组织。（加入液氮，使组织冷冻完全后，快速、用力研磨至粉末状。然后加入350  $\mu$ l Buffer PBS 和0.9  $\mu$ l RNase A 后温和地研磨30 s。

材料	提取量
动物组织	20 mg
植物花或叶片	10-100 mg
植物茎	$\leq 240$ mg
植物根	$\leq 240$ mg
植物种子	$\leq 240$ mg

**注意：**如选用的是冷冻干燥的植物组织，则组织用量减半。

#### 【从培养细胞、淋巴细胞、骨髓、干血和骨头中提取基因组DNA】

根据培养细胞的类型来操作，若从植物细胞中提取基因组DNA，请按步骤(从植物组织中提取基因组DNA)来匀浆。

材料	提取量
细胞	$1 \times 10^3 - 2 \times 10^6$ mg

#### A. 悬浮培养的动物细胞或新鲜分离的动物组织单细胞悬液

1A. 用2 ml 离心管收集 $1 \times 10^3 - 2 \times 10^6$  细胞悬浮液，2,000 $\times$ g 离心5 min，弃尽上清。

2A. 加入350  $\mu$ l 去离子水或 PBS 悬浮细胞。

## B.单个细胞培养或96孔板、24孔板、12孔板和6孔板细胞培养

- 1B. 尽可能的丢掉上清液，加350  $\mu$ l PBS 到每孔中，室温静置1 min。
- 2B. 用吸头来回吸注几次，转移350  $\mu$ l 匀浆至2 ml 离心管，如匀浆体积不足350  $\mu$ l，补足PBS 至350  $\mu$ l。

## C.淋巴细胞

- 1C. 加350  $\mu$ l PBS 到每孔中，室温静置 1 min。
- 2C. 用吸头来回吸注几次，转移350 $\mu$ l 匀浆至2 ml 离心管，如匀浆体积不足350  $\mu$ l，补足PBS至350  $\mu$ l。

## D.骨髓

- 1D. 切除骨头的两端，用针头吸350  $\mu$ l PBS从骨头一端冲出骨髓。
- 2D. 用吸头来回吸注几次，转移350  $\mu$ l 匀浆至2 ml离心管，如匀浆体积不足350  $\mu$ l，补足PBS至350  $\mu$ l。

## E.干血

- 1E. 加350  $\mu$ l PBS到每孔中，室温静置1 min。
- 2E. 用吸头来回吸注几次，至干血完全溶解，如匀浆体积不足350  $\mu$ l，补足PBS至350  $\mu$ l。

## F.骨头

- 1F. 取10-50 mg 骨头，移入冰水浴预冷的研钵中，快速、用力研磨成匀浆；加入350  $\mu$ l PBS，用力碾磨30 s。
- 2F. 用吸头来回吸注几次，转移350 $\mu$ l 匀浆至2 ml 离心管，如匀浆体积不足350  $\mu$ l，补足PBS至350  $\mu$ l。

## 【从酵母中提取基因组DNA】

材料	提取量
酵母细胞	$2 \times 10^6 - 5 \times 10^7$

1. 收集 酵母细胞于10,000 $\times$ g 离心 1min。用350  $\mu$ l PBS 和0.9  $\mu$ l RNase A悬浮酵母细胞并转移至研钵中，加入液氮，待样品被完全冷冻后，快速、用力研磨至粉末状。将研钵放入56 $^{\circ}$ C水浴至样品粉末刚开始融化时进入下一步操作。

2. 加入1.2  $\mu\text{l}$  RNase A 贮存液，快速用力研磨30 s(如已加入 RNase A，此步骤可省略)
3. 收集350  $\mu\text{l}$  研磨好的组织匀浆并转入2 ml 离心管。如匀浆体积不足350  $\mu\text{l}$ ，补充PBS至350  $\mu\text{l}$ 。
4. 加入150  $\mu\text{l}$  Buffer GA和 20  $\mu\text{l}$  Proteinase K。立即漩涡振荡1min 混合均匀。短暂离心后,将离心管置56°C水浴 10 min。

**注意：不要将Proteinase K 直接加到Buffer GA中。**

5. 加入350  $\mu\text{l}$  Buffer GB，漩涡振荡30s 混合均匀，12,000 $\times$ g 离心10 min。
6. 吸取步骤 4 中的离心上清并转移到吸附柱（置于 2 ml 离心管）中，12,000 $\times$ g离心 1 min，弃滤液。
7. 将吸附柱置回2ml离心管，加 500  $\mu\text{l}$  蛋白洗涤液Buffer W1，12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃滤液。
8. 将吸附柱置回2ml离心管，加 700  $\mu\text{l}$  漂洗液Buffer W2（请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃滤液。
9. 重复操作步骤7。

**注意：两次使用Buffer W2 冲洗能确保盐份被完全清除，消除对酶切反应的影响。**

10. 将吸附柱置回 2 ml 离心管中，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
11. 将吸附柱移入新的 1.5 ml 离心管中，在制备管膜中央加 100-20  $\mu\text{l}$  Buffer Eluent 或去离子水，室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min洗脱DNA。

**注意：将洗脱液 Buffer Eluent 或去离子水加热至 65°C将提高洗脱效率。**