



通用型基因组DNA提取试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100012

产品简介

本品通过采用特异性结合 DNA 的硅胶吸附柱和独特的裂解体系，可从各种动物组织、细胞、细菌等样本中快速提取基因组 DNA，可最大限度地除去杂蛋白、多糖、非核酸类物质及无机盐离子等。提取过程操作简单，无需使用酚、氯仿等有毒试剂。提取的基因组 DNA 片段完整、浓度高、质量好，能够直接用于各种常规分子生物学实验，如 PCR、Real-Time PCR、酶切、文库构建、测序等。

产品目录

产品名称	规格
通用型基因组 DNA 提取试剂盒	50 rxns
通用型基因组 DNA 提取试剂盒	200 rxns

产品组成

组分	50 rxns	200 rxns
缓冲液 A	15 mL	50 mL
缓冲液 B	15 mL	50 mL
蛋白酶 K	1 mL	1 mL × 4
漂洗液 PD	21 mL	84 mL
漂洗液 PW	15 mL	50 mL
洗脱液 EB	15 mL	60 mL
吸附柱 B6	50 个	200 个
收集管	50 个	200 个

产品用途

用于细胞、动物组织和细菌等基因组 DNA 的提取。

产品特点

- 1. 操作便捷，简单快速；
- 2. 样品适用范围广；
- 3. 提取的基因组 DNA 片段完整、纯度高、质量好。

注意事项

- 1. 样品应避免反复冻融，否则易导致细胞破裂，内容物流出，基因组 DNA 发生断裂；
- 2. 若缓冲液 A 或缓冲液 B 中有沉淀，可在 37℃ 水浴中重新溶解，摇匀后使用；
- 3. 如需去除 RNA 残留，需自备 RNase A（10 mg/mL）；
- 4. 所有实验步骤应在室温（15 ~ 30℃）下进行；
- 5. 第一次使用前应在漂洗液 PD 中加入无水乙醇，加入量请参照瓶上标签；



- 6. 第一次使用前应在漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入量请参照瓶上标签；
- 7. 请使用无核酸酶实验耗材以避免 DNA 降解；
- 8. 本品仅限科研使用。

操作步骤

一、样本处理

细胞 样本	1. 取 1×10^6 个细胞（最多不超过 5×10^6 个），$300 \times g$ 离心 5 min，弃上清液。 2. 加入 20 μL PBS 缓冲液或洗脱液 EB 重悬细胞，加入 180 μL 缓冲液 A，振荡至彻底悬浮。 3. 加入 20 μL 蛋白酶 K 混匀，再加入 200 μL 缓冲液 B，充分颠倒混匀，70℃孵育 10 min，期间上下颠倒混匀数次，溶液中可能有少量基因组团块析出，属正常现象。 4. 进入过柱纯化步骤。
动物 组织 样本	1. 取≤ 25 mg 剪碎、匀浆或液氮研磨的组织（脾脏及肾脏不超过 10 mg）于 1.5 mL 离心管中（若加入 PBS 等缓冲液进行研磨，则需要先离心得到沉淀再进行下一步），加入 200 μL 缓冲液 A 振荡至彻底悬浮。 注意：样本量过高或过低均会降低 DNA 的产量和纯度，但对于肌肉、皮肤等 DNA 含量低的组织，取样可扩大至 25 ~ 50 mg，同时按比例增加缓冲液 A、缓冲液 B、蛋白酶 K 和无水乙醇的用量，多次过柱收集 DNA。 2. 加入 20 μL 蛋白酶 K 混匀后，再加入 200 μL 缓冲液 B，充分颠倒混匀，70℃孵育 10 min，期间上下颠倒混匀数次，直至组织溶解；如果仍有颗粒状物质，可适当延长消化时间，随后 12000 rpm（13400 $\times g$）离心 1 min 取上清进行下一步实验。 3. 进入过柱纯化步骤。
细菌 样本	1. 取细菌培养液 0.5 ~ 2 mL（$\leq 3.0 \times 10^9$ 个细菌），12000 rpm（13400 $\times g$）离心 1 min，弃去培养液。 注意：细菌数量可以通过分光光度计进行测量，$OD_{600}=1.0$ 时约 $0.8 \sim 1 \times 10^9$ 个细菌/mL，若细菌数量过多，可同时按比例增加缓冲液 A、缓冲液 B、蛋白酶 K 和无水乙醇用量，多次过柱收集 DNA。 2. 加入 200 μL 缓冲液 A 振荡至彻底重悬，加入 20 μL 蛋白酶 K 混匀后，继续加入 200 μL 缓冲液 B，振荡 15 s，充分颠倒混匀。 注意：革兰氏阳性菌应先加入 90 μL Lysozyme 溶菌酶（50 mg/mL）和 110 μL 缓冲液 A，振荡使菌体重悬，37℃孵育 30 min（细胞壁较厚的细菌如金黄色葡萄球菌需要孵育 1 ~ 2 h 才能完全破壁）。若需要提高 DNA 纯度，可在重悬后的菌体加入 4 μL 的 RNase A 溶液（100mg/mL，需自备），振荡混匀，常温放置 5min。然后再进行下一步，加入蛋白酶 K 与缓冲液 B，振荡 15 s，充分颠倒混匀。 3. 70℃孵育 10 min，期间上下颠倒混匀数次，直至溶液变得更透明。 注意：革兰氏阳性菌应根据情况延长孵育时间。 4. 进入过柱纯化步骤。

二、过柱纯化

- 1. 加入 200 μ L 无水乙醇，振荡 1 min 进行混匀。
- 2. 将溶液全部转移至置于收集管的吸附柱中，12000 rpm（13400 $\times g$ ）离心 1 min。
注意：部分样本处理后上柱时可能还会有吸附柱堵塞现象，可加大离心力并延长离心时间；若依然有少量液体堵塞，可去除残留液体后继续下一步骤。
- 3. 弃去滤液，沿管壁加入 500 μ L 漂洗液 PD 至吸附柱中，12000 rpm（13400 $\times g$ ）离心 1 min。
- 4. 弃去滤液，沿管壁加入 600 μ L 漂洗液 PW 至吸附柱中，12000 rpm（13400 $\times g$ ）离心 1 min。



5. 重复步骤 4。

6. 弃滤液，吸附柱置于收集管中12000 rpm（13400 ×g）离心2 min。

注意：离心后建议开盖放置 5 min，使残留的乙醇挥发。

7. 将吸附柱转移至新的 1.5 mL 离心管中，向吸附柱膜中央滴加 50 ~ 200 μL 洗脱液，室温静置 3 min，12000 rpm（13400 ×g）离心 1 min，DNA 产物放置于-25 ~ -15 °C保存，长期保存放置于-70 °C以下，以防降解。

注：若需获得最高产量，可将洗脱液预热至 55 °C再洗脱，并将第一次洗脱所得溶液重新加入吸附柱进行洗脱。

■ 储存及运输条件

15 ~ 30 °C保存，有效期 15 个月。15 ~ 30 °C运输。

■ 常见问题及解决方法

问题	可能原因	解决方法
吸附柱堵塞	投入样本量过多	按兼容范围投入样本量，或者等比例增加缓冲液 A、缓冲液 B、蛋白酶 K 与无水乙醇用量。
	蛋白酶 K 活性下降	更换新的蛋白酶 K。
	样本裂解不充分	尽可能磨碎样本，延长孵育时间，提高混匀频率。
DNA 产量低	样本被反复冻融	避免反复冻融样本，推荐使用新鲜样本或只冻融过一次的样本。
	动物组织裂解不充分	组织块匀浆或用液氮充分研磨，加入缓冲液 A、缓冲液 B、蛋白酶 K、无水乙醇后充分混匀，适当延长孵育时间。
	革兰氏阳性菌破壁不完全	可适量增加溶菌酶的用量并延长其消化时间。或使用机械破碎的方式进行裂解。
	洗脱效率低	将洗脱液提前预热至 55 °C，滴加于吸附柱膜中央位置，增加洗脱体积或洗脱次数。
	漂洗液PD/漂洗液PW未添加无水乙醇	请按瓶身说明添加无水乙醇至漂洗液 PD 和漂洗液 PW 中充分混匀后再使用。
	未将裂解混合液完全转入吸附柱中	裂解后加入无水乙醇，溶液中会出现絮状沉淀，需将其同溶液一起转移至吸附柱中。
DNA 纯度低	杂蛋白污染	未使用漂洗液 PD 漂洗，或漂洗液 PD 中未加入正确体积的无水乙醇。请按瓶身说明添加无水乙醇。
	盐离子污染	未使用漂洗液 PW 漂洗，或漂洗次数不够。请按说明书使用漂洗液漂洗两次。
	RNA 残留	若 RNA 残留较多，可在过柱纯化前加入 4 μL RNase A（100mg/mL，需自备），室温放置 5 min。