

SteadyPure 通用型基因组DNA提取试剂盒

SteadyPure Universal Genomic DNA Extraction Kit

Code No. AG21010

包装量: 250 rxns
保存温度: Package 3-1 -20°C
Package 3-2 -20°C
Package 3-2 室温(15 ~ 30°C)

产品概述

SteadyPure 通用型基因组 DNA 提取试剂盒是一种可从细胞、动植物组织、细菌、血液等多种样本中快速高效提取基因组 DNA 的产品。本产品采用优化的裂解系统，对多种样本具有较强的裂解能力，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，可有效去除蛋白质、盐等杂质。提取的基因组 DNA 完整性好，纯度高，质量稳定可靠。基因组 DNA 溶解于 Elution Buffer 或者灭菌水中，可直接用于 PCR 扩增、qPCR 扩增、文库构建、gDNA 序列分析等。

安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、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 Buffer LS-2、Buffer BS-2 或 Buffer WA 不小心溅出，请立刻用清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

产品组成 *1

Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml X 5 pcs
RNase A (10 mg/ml)	500 µl X 5 pcs
Buffer LS-2	65 ml
Buffer BS-2	65 ml
Buffer WA	125 ml
Buffer WB *2	135 ml
Elution Buffer	62.5 ml
Universal DNA Mini Columns	125 sets X 2
Collection tubes	125 pcs X 2

*1: Proteinase K (20 mg/ml) 包装于 Package 3-1 中，RNase A (10 mg/ml) 包装于 Package 3-2 中，均需放置于 -20°C 保存；其余组分均包装于 Package 3-3 中，室温 (15 ~ 30°C) 保存。

*2: Buffer WB 在首次使用前，请添加 315 ml 的无水乙醇（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、Buffer BS-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 3-1 -20℃ 保存

Package 3-2 -20℃ 保存

Package 3-3 室温 (15-30℃) 保存

运输温度：Package 3-1 干冰运输或-20℃冰袋运输

Package 3-2 干冰运输或-20℃冰袋运输

Package 3-3 室温 (15-30℃) 运输

➤ 注意事项

1. 应尽量使用新鲜的实验材料，以确保样本中的基因组 DNA 不被降解。
2. 使用液氮研磨组织材料时，应随时加入液氮，以确保研磨过程中基因组 DNA 不被降解。
3. “初裂解”和“再裂解”步骤中，水浴期间可时常将样品取出进行振荡或颠倒混匀以加速裂解。
4. 若样本未充分裂解至澄清透明且不粘稠的状态，可根据需要延长裂解时间。
5. 样本切勿超过最大起始量，且要充分裂解，避免堵塞 *Universal DNA Mini Columns*，影响 DNA 收量及纯度。如果样本量较大，请适当增加试剂用量。
6. *Universal DNA Mini Columns* 的最大容积为 750 μl，使用时如果液体的体积超出最大容积，请分次加入：上样 750 μl 混合液后，离心，弃滤液，然后将剩余混合液再次上样，重复此步骤；或使用多个 *Universal DNA Mini Columns* 进行纯化。
7. 操作过程中，*Universal DNA Mini Columns* 的吸附柱需竖直从 Collection tubes 或 1.5 ml 的离心管中取出（或放入），避免吸附柱柱头触碰管壁，造成污染。
8. 若基因组 DNA 需长期保存时，建议用 Elution Buffer 溶出。

➤ 操作流程

初裂解

根据样本的不同，选择合适的裂解步骤，待“初裂解”步骤完成后，请立即进入后续的“再裂解”步骤及纯化步骤。



样本裂解处理

◆ 贴壁培养细胞

1. 弃尽细胞培养液，向每 10 cm² 的贴壁细胞（约 $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$ 个细胞）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 离心管中，5,000 rpm 室温离心 5 min，弃上清，加入 200 μl 的 PBS 或灭菌水悬浮细胞。
2. 向悬浮液中加入 250 μl 的 Buffer LS-2、20 μl 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μl 的 RNase A (10 mg/ml)，用移液枪充分吸打混匀，于 56℃ 水浴加热 10 min 使样本充分裂解，充分裂解的溶液呈现澄清透明且不粘稠的状态。

◆ 悬浮培养细胞

1. 将细胞培养液 5,000 rpm 室温离心 5 min，弃上清，收集 $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$ 个细胞。向离心管中加入 200 μl 的 PBS 或灭菌水悬浮细胞。
2. 向悬浮液中加入 250 μl 的 Buffer LS-2、20 μl 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μl 的 RNase A (10 mg/ml)，用移液枪充分吸打混匀，于 56℃ 水浴加热 10 min 使样本充分裂解，充分裂解的溶液呈现澄清透明且不粘稠的状态。

◆ 动物组织、植物组织

1. 将新鲜或 -80℃ 冻存的动物、植物组织样品转移至液氮预冷的研钵中，用研杵研磨动物、植物组织（研磨过程中需要不断向研钵中补加液氮），直至研磨成粉末状（无明显可见颗粒，研磨不充分会影响样本的收量）。
2. 取 2~25 mg 已研磨成粉末状的动物组织样本或 25~100 mg 已研磨成粉末状的植物组织样本转移至含有 250 μl Buffer LS-2 的 1.5 ml 离心管中，立即颠倒或涡旋混匀样本。
3. 向上述裂解液中加入 20 μl 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μl 的 RNase A (10 mg/ml)，用移液枪充分吸打混匀，于 56℃ 水浴加热 30 min 至组织充分裂解，充分裂解的溶液呈现澄清透明且不粘稠的状态。

【注：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 室温离心 2 min，转移上清液至新的 1.5 ml 离心管中，再进行后续操作。】

◆ 细菌

1. 12,000 rpm 室温离心 2 min 收集约 1.0~5.0 OD 的细菌，弃上清。
2. 向沉淀中加入 250 μ l 的 Buffer LS-2、20 μ l 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μ l 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 min 使样本完全裂解，充分裂解的溶液呈现澄清透明且不粘稠的状态。

◆ 血液样本

1. 取 1~20 μ l 全血（有核红细胞含抗凝剂）或 20~200 μ l 全血（无核红细胞含抗凝剂）加入至 1.5 ml 离心管中。
【注：若样本起始量不足 200 μ l，请用 PBS 或灭菌水补至 200 μ l。】
2. 向上述血液样本中加入 250 μ l 的 Buffer LS-2、20 μ l 的 Proteinase K (20 mg/ml) 和 10 μ l 的 RNase A (10 mg/ml)，用移液枪充分吸打混匀，于 56°C 水浴加热 10 min 进行细胞裂解。

再裂解

1. 向上述混合液中加入 250 μ l 的 Buffer BS-2，充分吸打混匀，70°C 水浴加热 10 min 进行细胞裂解。
2. 向上述混合液中加入 250 μ l 无水乙醇，充分吸打混匀。

纯化步骤

1. 将上述溶液全量转移至 *Universal DNA* Mini Columns 中，室温静置 1 min，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。



离心、弃滤液

2. 向 *Universal DNA* Mini Column 中加入 500 μ l 的 Buffer WA，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。
3. 向 *Universal DNA* Mini Column 中加入 750 μ l 的 Buffer WB，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。

【注：请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的无水乙醇。】

4. 重复步骤 3 一次。



Buffer WA 洗一次
Buffer WB 洗两次

5. 将 *Universal DNA* Mini Column 安置于新的 2.0 ml Collection Tube 中，12,000 rpm 室温离心 2 min。

6. 将 *Universal DNA* Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管中，在吸附膜的中央处加入 50 μ l ~ 100 μ l Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 2 min，然后 12,000 rpm 室温离心 2 min 洗脱 DNA，获得的 DNA 可直接用于后续检测或放入 -20°C 中保存。

【注：① 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 中的洗脱液再次转移至 *Universal DNA* Mini Columns 中进行二次洗脱。

② Elution Buffer 或灭菌水的添加量可根据实际需求的 DNA 浓度调整，若需求较高浓度的 DNA，可适当降低 Elution Buffer 或灭菌水的添加量（例：30~50 μ l）。】



洗脱

