



基因组 DNA 提取实验报告

1 实验器材及试剂

1.1 实验器材

名称	厂家	型号
台式高速冷冻型微量离心机	DragonLab	D3024R
超净工作台	苏净安泰	SW-CJ-1FD
标准试剂型纯水仪	青岛富勒姆科技有限公司	FBZ2001-up-p
超微量分光光度计	Thermo	NanoDrop2000

1.2 主要实验试剂及耗材

试剂	厂家	货号
组织/细胞/血液基因组 DNA 提取试剂盒	Servicebio	G3633
离心管	Servicebio	
TIP 头	Servicebio	
RNase A	Servicebio	G3405
异丙醇	国药集团化学试剂有限公司	80109218
无水乙醇	国药集团化学试剂有限公司	10009218

2 基因组 DNA 提取步骤

2.1. 处理材料

- a) 取 50-100 μL 无核红细胞全血 (含抗凝剂), 置于 1.5 mL 离心管中, 补加溶液 **Buffer GA** 至 200 μL , 使用涡旋振荡器涡旋混匀, 接着进行第 3 步 (注意: 如果处理更大体积血液, 在样品中加入 3 倍体积红细胞裂解液 (客户自备, 目录号: G2015) 颠倒混匀, 室温放置 5 min, 期间再颠倒混匀几次, 1,000 rpm 离心 5 min, 使用移液器轻轻吸弃上清, 留下白细胞沉淀, 加入 200 μL 溶液 **Buffer GA**, 使用涡旋振荡器涡旋混匀, 接着进行第 3 步);
- b) 取 5-20 μL 有核红细胞全血 (含抗凝剂), 置于 1.5 mL 离心管中, 补加溶液 **Buffer GA** 至 200 μL , 使用涡旋振荡器涡旋混匀, 接着进行第 3 步;
- c) 取 10^6 - 10^7 细胞悬液, 置于 1.5 mL 离心管中, 1,000 rpm 离心 5 min, 使用移液器轻轻吸弃上清;



d) 取 2-30 mg 的动物组织（切勿使用超过最大起始量的组织），置于 1.5 mL 离心管中，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；

2.2. 向离心管中加入 **200 μ L 溶液 Buffer GA**，使用涡旋振荡器重悬样品；

2.3. 向离心管中加入 **20 μ L 溶液 Proteinase K Stock Solution**，56°C 孵育 30-60 min（每 10 min 涡旋混匀），较难裂解的材料可以适当延长裂解时间（**注意：**如果有未彻底裂解的样品，会导致提取量和纯度偏低）；

2.4. 向离心管中加入 **200 μ L 溶液 Buffer GB**，充分上下颠倒混匀 6-8 次，70°C 放置 10 min，溶液应变清亮（**注意：**加入缓冲液 GB 时可能会产生白色沉淀，一般 70°C 放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯）；

2.5. 向离心管中加入 **200 μ L 无水乙醇**，涡旋振荡混匀 15 sec，若是溶液中有沉淀，则 10,000 g 离心 5 min，收集的上清液转移至新的离心管中，注意尽量不要吸取沉淀；若是没有沉淀，则直接进行下一步；

2.6. 如果需要去除 RNA，可选**步骤 a) 或 b)**

a) 向离心管中加入 **50 μ L RNase A**（客户自备，目录号：[G3405](#)），吹打均匀后常温放置 5 min；

b) 第 12 步结束后的洗脱产物，向离心管中加入 **1 μ L RNase A**（客户自备，目录号：[G3405](#)），吹打均匀后常温或 37°C 放置 5-30 min 即可；

2.7. 将吸附柱（Bind DNA Mini Columns）置入收集管（Collection Tubes）中，向吸附柱中加入上一步所得产物，10,000 g 离心 30 sec，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中；

2.8. 向吸附柱中加入 **500 μ L 溶液 Buffer PD**，10,000 g 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中；

2.9. 向吸附柱中加入 **600 μ L 溶液 Buffer PW**（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），10,000 g 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中（**注意：**如果回收的 DNA 是用于盐敏感的实验，例如酶切或 PCR 等，建议 Buffer PW 加入后静置 2-5 min 再离心）；

2.10. 重复操作步骤 9；



2.11. 将吸附柱放入收集管中，10,000 g 离心 2 min，尽量除去残留的液体；将吸附柱置于室温放置 5 min 或者 37°C 培养箱放置 3 min，彻底晾干（**注意：**漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶切、PCR 等实验）；

2.12. 将吸附柱放入一个干净离心管中，向吸附中的膜中间位置**悬空滴加 50-100μL 溶液 Elution Buffer 或 ddH₂O**（60-65°C 预热 Elution Buffer 或 ddH₂O 后再使用效果更佳），室温放置 2 min，10,000 g 离心 2 min，收集 DNA 溶液（**注意：**洗脱液的体积不应少于 50 μL，体积过少会影响回收的效率。为了提高 DNA 的回收量，可将离心得到的溶液重新加回离心吸附柱中，室温放置 2 min，10,000 g 离心 2 min，将 DNA 溶液收集到离心管中。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有较大影响，其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解）。



Genomic DNA Extraction Report

1 Laboratory Equipment and Reagents

1.1 Laboratory equipment

Equipment	Manufacturers	Model
Centrifuge	DragonLab	D3024R
Clean bench	Suzhou Antai Air Tech Co., Ltd	SW-CJ-1FD
Standard reagent type pure water meter	Qingdao Fulum Technology Co., Ltd	FBZ2001-up-p
Ultramicro spectrophotometer	Thermo	NanoDrop2000

1.2 Reagents

Reagents	Manufacturers	Order
(Tissue/Cell/Blood) Genomic Extractin DNA Kit	Servicebio	G3633
Isopropyl alcohol	Sinopharm Group Chemical Reagent Co., Ltd.	80109218
Centrifuge tube	Servicebio	
TIP	Servicebio	

2 Genomic DNA Extraction Experimental steps

2.1 Samples preparation

2.1.1 For blood, please use 50-100 μ L fresh, frozen or anticoagulant adding blood. If less than 200 μ L, please make up with **buffer GA** to 200 μ L.

2.1.2 If the sample is blood from poultry, birds, amphibians, of which red blood cells have nucleolus, the amount should be reduced to 5-20 μ L and adjust the volume to 200 μ L with **buffer GA**.

2.1.3 The adherent cells should be treated to cell suspension first, then centrifuge the cells for 5 min at 1,000 rpm, then discard the flow-through and re-suspend cell pellet in 200 μ L **buffer GA**.

2.1.4 Animal tissue (2-30mg) should be treated to cell suspension first, then centrifuge the cells for 1 min at 12,000 rpm, then discard the flow-through and re-suspend cell pellet in 200 μ L **buffer GA**.

2.2 Add 20 μ L **Proteinase K Stock Solution**, mix thoroughly by vortex. If the sample is tissue: incubate at 56°C for 30-60 min until the tissue is completely lysed (mix thoroughly by vortex per 10 min).

2.3 Add 200 μ L **Buffer GB** to the sample, mix thoroughly for 6-8 times, and incubate at 70°C for



10 min to yield a homogeneous solution. Briefly centrifuge the 1.5 ml microcentrifuge tube to remove drops from the inside of the lid.

2.4 Add 200 μ L ethanol to the sample, and mix thoroughly by vortex for 15 s. A white precipitate may form on addition of ethanol. Briefly centrifuge the 1.5 ml microcentrifuge tube to remove drops from the inside of the lid.

2.5 Pipet the mixture from step 4 into the Bind DNA Mini Columns (in a 2 ml collection tube) and centrifuge at 10000g for 30 s. Discard flow-through and place the spin column into the collection tube.

2.6 Add **500 μ L Buffer PD** to Bind DNA Mini Columns, and centrifuge at 10000g for 1 min , then discard the flow-through and place the spin column into the collection tube.

2.7 Add **600 μ L Buffer PW** (Ensure ethanol has been added) to Bind DNA Mini Columns, and centrifuge at 10000g for 1 min. Discard the flow-through and place the spin column into the collection tube.

2.8 Repeat Step 7.

2.9 Centrifuge at 10000g for 2 min to dry the membrane completely. Note: The residual ethanol of buffer PW may have some effect in downstream application.

2.10. Place the Bind DNA Mini Column in a new clean 1.5 ml microcentrifuge tube, and pipet 50-100 μ L **Elution Buffer or ddH₂O** directly to the center of the membrane. Incubate at room temperature (15-25°C) for 2-5 min, and then centrifuge for 2 min at 10000g.