

**MonPure™**  
**Universal Genome DNA Kit**

MI00101S

**使用说明书**

Version 2.0

## 【产品名称】

英文名称: MonPure™ Universal Genome DNA Kit

中文名称: 快速通用型基因组 DNA 提取试剂盒

## 【包装规格】

50 Preps / 盒

## 【产品介绍】

本产品采用独特的裂解液配合蛋白酶 K 消化各种不同类型的生物样本, 释放 DNA, 再辅以独创的萃取技术快速去除生物样本中的蛋白水解产物、脂类、多糖、酚衍生物、色素等杂质。特别设计的核酸纯化柱能选择性地吸附萃取水相中的大片段 DNA, 小片段核酸则被选择性地滤过除去。核酸纯化柱上吸附的 DNA 仅需用一种洗液洗涤 1~2 次即可获得多至 25 µg 的高纯度基因组 DNA。适用于 PCR、Southern 印迹分析、RAPD、RFLD 等分子生物学实验。

**【适用范围】** 植物、动物组织、培养细胞、淋巴细胞、全血或骨髓、骨头、粪便样本、酵母和细菌等。

## 【主要组成成分】

组分 / 规格	MI00101S (50 Preps)	储存条件	运输条件
MonPure™ Spin Columns	50 个	室温或 2~8°C	室温
MonPure™ 2 ml Centrifuge Tubes	50 个	室温或 2~8°C	室温
MonPure™ Protease K	1.2 ml	短期储存可放置于室温或 2~8°C; 长期储存放置于 -20°C	室温
Universal Genome DNA Buffer GE	18 ml	室温或 2~8°C	室温
Universal Genome DNA Buffer PE	30 ml	室温或 2~8°C	室温
Universal Genome DNA Buffer WB	19 ml	室温或 2~8°C	室温
Universal Genome DNA Buffer TE	30 ml	室温或 2~8°C	室温
说明书	1 份	室温	室温

## 【有效期】

常温放置有效期两年, 试剂放置于 2~8°C, 可延长保质期至两年以上。

## 【自备材料】

- 自备试剂: 无水乙醇、RNaseA (50 mg/ml, 酵母 DNA 提取用)、溶菌酶 (细菌 DNA 提取用);
- 自备耗材: 1.5 ml 无核酸酶离心管 (具体规格以实际处理样品量为准);
- 自备设备: 涡旋振荡器、水浴锅、台式离心机 (如果离心机有制冷功能, 请将温度设置到 25°C, 离心机可适配 1.5 ml 和 2.0 ml 离心管)、匀浆器 (选用)。

## 【使用前准备】

- 使用前请先确认 Buffer WB 中已加入相应体积的无水乙醇, 加入体积参照标签。
- 使用前请先确认 Buffer PE 和 Buffer GE 有无沉淀, 如有沉淀, 可 56°C 水浴, 直至沉淀消失后再使用。
- 将水浴锅温度设置为 56°C, 并将 Buffer TE 温育至 56°C。

## 【样本前处理】

### a) 动物组织

将约 20~50 mg 动物组织用手术刀剁成匀浆状, 全部转入一个洁净的 1.5 ml 离心管中, 加入 150 µl Buffer TE 旋涡振荡 30 秒混合均匀。

\* 下表组织中组织可使用液氮或组织破碎仪 (货号: GS60201) 研磨, 并增加 Buffer TE 量至 200 µl。

样本类型	样本举例
富含 DNA 酶	胰脏、胸腺、淋巴等组织
富含胶原蛋白	皮肤、肌腱等
富含角质蛋白或坚硬的组织	骨骼等

#### b) 植物组织

按下表称取适量植物组织，使用液氮或组织破碎仪（货号：GS60201）研磨至粉末状，加入 300  $\mu$ l Buffer TE 混匀形成匀浆，将 200  $\mu$ l 研磨好的匀浆转移至 1.5 ml 离心管中。

样本类型	新鲜组织推荐用量	冷冻干燥组织推荐用量
植物花或叶片	100~200 mg	50~100 mg
植物根、茎、种子	$\leq$ 240 mg	$\leq$ 120 mg

\* 若匀浆较为粘稠无法吸出，说明样本用量过多，可补加 200  $\mu$ l Buffer TE 形成均匀匀浆，然后再吸取 200  $\mu$ l 匀浆进入下一步操作。

#### c) 培养细胞、淋巴细胞、全血或骨髓、骨头

##### c1. 悬浮培养的动物细胞或新鲜分离的动物组织单细胞悬液

300 rpm (6 g) 离心 5 分钟收集约  $5 \times 10^6$  细胞，上清全部弃掉后加入 200  $\mu$ l Buffer TE 悬浮细胞。

##### c2. 贴壁培养的细胞

弃培养上清，用胰酶消化并悬浮细胞，300 rpm (6 g) 离心 5 分钟收集约  $5 \times 10^6$  细胞。上清全部弃掉后加入 200  $\mu$ l Buffer TE 悬浮细胞。

##### c3. 淋巴细胞

收集约  $5 \times 10^6$  淋巴细胞，控制细胞悬液在 200  $\mu$ l 左右，如果细胞悬液小于 200  $\mu$ l，补加 Buffer TE 至终体积为 200  $\mu$ l。

##### c4. 血液或者骨髓

收集 200  $\mu$ l 抗凝全血或者骨髓（EDTA 抗凝）。

##### c5. 骨骼

取 50~100 mg 敲碎的骨骼，研磨后加入 300  $\mu$ l Buffer TE 混匀。将 200  $\mu$ l 匀浆液转移至 1.5 ml 离心管中。

#### d) 细菌

取 3~5 ml 细菌培养物，离心后，去掉上清，向离心管中加入 100  $\mu$ l Buffer TE，旋涡振荡充分悬浮细菌。

加入 100  $\mu$ l 溶菌酶溶液（100 mg/ml，用户自备），旋涡振荡约 15 秒混匀，37°C 水浴 30 分钟。

\* 某些二价阳离子会抑制溶菌酶的活性，如果细菌培养基中含有二价阳离子（如 MRS 培养基等），应在离心收集细菌后增加一次洗涤步骤：加入 1 ml 去离子纯水，旋涡振荡悬浮细菌后 12,000 rpm (10,012 g) 离心 30 秒，弃去离子纯水，再加入 100  $\mu$ l Buffer TE，旋涡振荡充分悬浮细菌。

\* 溶菌酶溶液冻融后会严重降低溶菌效率，请尽量使用新鲜配制的或冻融不超过一次的溶菌酶溶液。

#### e) 酵母

收集过夜培养的酵母菌 5~10 ml，12,000 rpm (10,012 g) 离心 30 秒后弃尽上清。加入 100  $\mu$ l Buffer TE，直接用吸头吹打菌体沉淀，并将其吸出转入研钵中。倒入液氮浸没菌液，用力研磨直至菌块呈粉末状，在粉末状的酵母开始融化时，向研钵中加入 100  $\mu$ l Buffer TE 和 2  $\mu$ l RNase A（用户自备），继续研磨数次，将匀浆液转入 1.5 ml 离心管中，56°C 水浴 5 分钟。

\* 在没有液氮的条件下，可采用直接研磨约 15 分钟左右充分破坏细胞壁，在此过程中如果液体被蒸发掉，补加 100  $\mu$ l Buffer TE 继续研磨。

\* 如果裂解物少于 200  $\mu$ l，补加 Buffer TE 至 200  $\mu$ l。

#### f) 粪便

用 1.5 ml 离心管收集 30~50 mg 粪便，加入 150  $\mu$ l Buffer TE，旋涡振荡直至粪便颗粒全部悬浮。

\* 如果粪便呈液态，则直接吸取 50  $\mu$ l 粪便；如果从小鼠粪便中提取 DNA，可在加入 150  $\mu$ l Buffer TE 后用研磨棒研碎粪便颗粒。

#### 【纯化步骤】

1. 加入 300  $\mu$ l Buffer GE、20  $\mu$ l Protease K。立即旋涡振荡 30 秒混合均匀。

\* 切勿将 Protease K 直接加到 Buffer GE 中。

2. 56°C 水浴 10 分钟（酵母样本延长至 20 分钟）。

\* 水浴期间每隔 2~3 分钟翻转离心管可提高 DNA 的释放率。

- \* 未经液氮研磨的动物组织水浴 10 分钟后可能会残留有未被溶解的组织颗粒，可以继续后续操作，如果要提高 DNA 的得率，可延长水浴时间直至组织全部溶解后再进入下一步操作。
  - \* 富含纤维的根 / 茎等组织或富含淀粉、蛋白质的种子等样品，可延长水浴时间至 30 分钟。
3. 加入 500  $\mu$ l Buffer PE，用力摇晃 5~10 次形成乳浊液，再旋涡振荡 30 秒混合均匀，离心 1 分钟（转速  $\geq$ 12,000 rpm (10,012 g)，植物样本可延长至 5 分钟）。
  4. 吸取所有上清液加入到 Spin Columns 中（Spin Columns 置于 2 ml Centrifuge Tubes 中），盖上管盖，12,000 rpm (10,012 g) 离心 30 秒。
    - \* 尽量吸取上清液，沉淀物会严重影响最终 DNA 的纯度。
  5. 弃 2 ml Centrifuge Tubes 中的滤液，将 Spin Columns 放回 2 ml Centrifuge Tubes 中，在 Spin Columns 中加入 800  $\mu$ l Buffer WB，盖上管盖，12,000 rpm (10,012 g) 离心 30 秒。
    - \* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。
  6. 弃 2 ml Centrifuge Tubes 中的滤液，将 Spin Columns 放回 2 ml Centrifuge Tubes 中，在 Spin Columns 中加入 300  $\mu$ l Buffer WB，盖上管盖，离心 1 分钟（转速  $\geq$ 12,000 rpm (10,012 g)）。
  7. 弃 2 ml Centrifuge Tubes，将 Spin Columns 置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在 Spin Columns 的膜中央加入 100~200  $\mu$ l 56°C 温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12,000 rpm (10,012 g) 离心 30 秒。
    - \* 如果 Spin Columns 沾染有滤液，请重新将 Spin Columns 放回 2 ml 离心管中最高速空离 1 分钟，再取出 Spin Columns 进行此操作步骤。
  8. 弃 Spin Columns，洗脱的 DNA 可用于各种分子生物学实验或者储存于 -20°C 备用。

☎ 400-928-3698

莫纳生物科技有限公司  
Monad Biotech Co., Ltd.

E-mail: support@monadbiotech.com  
www.monadbiotech.com

