

# SPINeasy DNA Kit for Tissue and Bacteria (With Lysing Matrix)

Cat. No.: 116532050 (50 preps) & 116532000 (5 preps)



## 快速操作指南

**注意事项** 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- Wash Buffer GD2 使用前加入 50 mL 无水乙醇（试用装加 5 mL），并在标签上做标记。
- 自备 1.5 mL 离心管用于收集洗脱纯化的基因组 DNA。
- 如果没有 FastPrep® 仪器，可使用涡旋振荡仪（推荐搭配相应适配器），以最大速度涡旋裂解 Lysing Matrix A 中的样品。
- 说明书中规定的离心速度仅供参考；14,000×g 是推荐的离心速度，若离心机达不到可采用最大速度离心。
- 如从革兰氏阳性菌中提取 DNA，请根据背面说明自行配制预处理液（自备）。

### 裂解

1. 在 Lysing Matrix A 中的样品制备，请参阅本快速操作指南的背面。
2. 使用 FastPrep® 仪器，4.0 m/s 研磨 15 s。  
或采用涡旋振荡仪，动物组织和细菌用最大速度涡旋 20 min，血液样品和培养细胞用最大速度涡旋 10 min。  
备注：以上研磨条件适用于大多数样品，个别样品需要尝试后确定。
3. 14,000×g，离心 10 min。

### 结合

4. 小心吸取上清液（约 750 μL）转移至 **Column GD** 中。
5. 14,000×g，离心 1 min，倒掉收集管中液体，再次安装好收集管。

### 漂洗

6. 向 Column GD 中加入 500 μL 的 **Wash Buffer GD1**。
7. 14,000×g，离心 1 min。倒掉收集管中的液体，再次安装好收集管。
8. 向 Column GD 中加入 750 μL **Wash Buffer GD2**。室温孵育 1 min。
9. 14,000×g，离心 1 min。倒掉收集管中的液体，再次安装好收集管。
10. 不加任何试剂，14,000×g，离心 1 min，以去除结合柱中残余漂洗液。
11. 可选：55°C 孵育 Column GD 3-5 min，使其干燥完全。

### 洗脱

12. 将 Column GD 装入新的 **1.5 mL 离心管** 中。
13. 向 Column GD 柱膜中央加入 100 μL **Elution Buffer GD**。室温孵育 1 min。
14. 8,000×g，离心 1-2 min 洗脱 DNA。
15. 离心管中液体即为洗脱的基因组 DNA，可直接应用于下游实验。

## Lysing Matrix A 样品制备总结

样品类型	样品量*	Lysis Buffer GD 用量	程序
动物组织	≤30 mg (脾脏≤10 mg)	1 mL	将组织样品切成小块, 转移到 <b>Lysing Matrix A</b> 中, 并加入 1 mL <b>Lysis Buffer GD</b> 。
血液 (无细胞核)	100 μL-200 μL	加入裂解液至终体积为 1 mL	加入 <b>Lysis Buffer GD</b> 至终体积 1 mL, 混合并将混合物转移到 <b>Lysing Matrix A</b> 中。
血液 (有细胞核)	10 μL	加入裂解液至终体积为 1 mL	加入 <b>Lysis Buffer GD</b> 至终体积 1 mL, 混合并将混合物转移到 <b>Lysing Matrix A</b> 中。
培养细胞团块	1×10 <sup>6</sup> 个细胞 (最多 5×10 <sup>6</sup> 个细胞)	1 mL	使用 1 mL <b>Lysis Buffer GD</b> 重悬细胞团块并将混合物转移到 <b>Lysing Matrix A</b> 中。
培养细胞团块 (收集在 100 μL PBS 中)	1×10 <sup>6</sup> 个细胞 (最多 5×10 <sup>6</sup> 个细胞)	900 μL, 终体积为 1 mL	加入 <b>Lysis Buffer GD</b> 至终体积 1 mL, 混合并将混合物转移到 <b>Lysing Matrix A</b> 中。
革兰氏阴性菌	离心收集过夜培养菌液 (3-9 mL), 弃上清保留沉淀	1 mL	使用 1 mL <b>Lysis Buffer GD</b> 重悬细菌团块并将混合物转移到 <b>Lysing Matrix A</b> 中。
革兰氏阳性菌	离心收集过夜培养菌液 (3-9 mL), 弃上清保留沉淀	预处理后加入 800 μL 裂解液	参照下方革兰氏阳性菌的预处理方法, 加入 800 μL <b>Lysis Buffer GD</b> , 混合并转移到 <b>Lysing Matrix A</b> 中。

### 革兰氏阳性菌的预处理

1. 准备革兰氏阳性菌预处理缓冲液 (自备), 包含:
  - 20 mM Tris-HCl, pH 8.0
  - 2 mM EDTA, pH 8.0
  - 1.2% Triton<sup>®</sup> X-100
  - 20 mg/mL 溶菌酶 (加入溶菌酶后请储存于 4°C)
2. 用 200 μL 革兰氏阳性菌预处理缓冲液重悬菌体
3. 37°C 孵育 30 min
4. 加入 800 μL **Lysis Buffer GD**, 混合并转移到 **Lysing Matrix A** 中。继续快速操作指南的第二步。