

EasyPure® Micro Genomic DNA Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EE181

保存: 试剂盒在室温(15-25℃)干燥条件下保存一年; Carrier RNA -20℃保存一年。

产品说明

本试剂盒采用酶解法裂解样品, 利用硅胶膜离心柱特异地吸附DNA。适用于从多种微量材料(血液、干血点、血清或血浆、漱口水、毛囊、微量组织、微切割样品、甲醛固定样品)中高效地提取基因组DNA。提取的基因组DNA适用于酶切、PCR等实验。

特点

- 提取速度快、提取量高。
- 纯度高, 离心柱高效、特异吸附DNA, 有效去除蛋白质、盐类等杂质。

试剂盒组成

Component	EE181-01 (50 rxns)
Lysis Buffer 14 (LB14)	6 ml
Binding Buffer 14 (BB14)	28 ml
Clean Buffer 14 (CB14)	28 ml
Wash Buffer 14 (WB14)	12 ml
Elution Buffer (EB)	5 ml
Carrier RNA (1 µg/µl)	55 µl
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml
Genomic Spin Column with Collection Tubes	50个

样品要求

种类	样品量
培养细胞	1×10^4 - 10^6 细胞
组织	≤10 mg
微切割样品	≤10 mg
甲醛固定样品	≤10 mg
大肠杆菌	≤ 1×10^9 细胞
抗凝血	1-50 µl
血清/ 血浆	50-250 µl
漱口水	2-20 ml
干血点	5 mm ² -100 mm ²
毛囊	1-20个

操作步骤

使用前加48 ml 100%乙醇到WB14。

提前准备55℃水浴, 所有离心均在室温下进行。

1、材料处理

• 培养细胞

- 对于贴壁细胞, 从培养盘移去培养液, 用胰蛋白酶或其他方法收集细胞, 250×g, 离心5分钟, 弃上清。
- 对于悬浮细胞, 收集细胞, 250×g, 离心5分钟, 弃上清。
- 加入100 µl LB14, 充分混匀, 悬浮细胞。
如果需要去除RNA, 可以加入20 µl RNase A 于样品中, 室温孵育2分钟。
- 加入20 µl Proteinase K 于样品中, 涡旋混匀, 室温孵育2分钟。



• 组织、微量切割样品、甲醛固定样品和毛囊

- (a) 将≤10 mg切碎的组织或1-20段含毛囊的0.5 cm毛发置于一无菌的1.5 ml 离心管中。
- (b) 加入100 μl LB14 和20 μl Proteinase K (确保组织完全进入离心管中) 。
- (c) 55℃孵育直至完全裂解 (大约3小时, 因组织不同而异, 甲醛固定样品需要过夜裂解; 鼠尾大约6-8小时, 可以过夜裂解, 每小时颠倒2-3次; 毛囊裂解约要1小时, 发茎未裂解不影响后续实验) 。
- 如果需要去除RNA, 可以在裂解完全后加入20 μl RNase A 于样品中, 室温孵育2分钟。
- (d) 12,000×g离心5 分钟, 转移上清于一无菌的离心管中。

• 大肠杆菌

- (a) 取细菌培养液 (OD600=1) 50 μl-1 ml, 12,000×g离心1分钟, 尽量吸净上清。
- (b) 向菌体沉淀中加入100 μl LB14 和20 μl Proteinase K, 振荡至菌体彻底悬浮。
- 如果需要去除RNA, 可以加入20 μl RNase A于样品中, 室温孵育2分钟。

• 抗凝血

- (a) 将≤50 μl血液置于一无菌的1.5 ml离心管中。
- (b) 用LB14将体系补足100 μl, 加入20 μl Proteinase K, 充分涡旋混匀。
- 冻存血中无RNA残留, 新鲜抗凝血如需去除RNA, 可以加入20 μl RNase A 于样品中, 室温孵育2分钟。

• 血清/血浆

- (a) 将50-250 μl血清或血浆置于一无菌的1.5 ml离心管中。
- (b) 不足100 μl的用LB14将体系补足100 μl, 加入20 μl Proteinase K, 充分涡旋混匀。

• 漱口水

- (a) 将2-20 ml漱口水样品800×g离心5分钟, 吸掉或小心倒掉上清。
- (b) 在样品沉淀中加入100 μl LB14使其重悬, 并将所有悬液转至一无菌1.5 ml离心管中。
- (c) 加入20 μl Proteinase K, 涡旋混匀, 室温孵育2分钟。

如果需要去除RNA, 可以加入20 μl RNase A于样品中, 室温孵育2分钟。

• 干血点

- (a) 将5 mm²-100 mm²的干血点尽量剪碎, 放入一个无菌1.5 ml离心管中。
- (b) 加入100 μl LB14和20 μl Proteinase K, 充分涡旋混匀, 室温孵育2分钟。
- 2、加入500 μl BB14和1 μl Carrier RNA, 充分涡旋后, 55℃孵育10分钟, 期间涡旋振荡3次。
- 3、将全部的溶液加入离心柱中, 12,000×g离心30秒, 弃去流出液。
- 4、加入500 μl溶液CB14, 12,000×g离心30秒, 弃去流出液。
- 5、加入500 μl溶液WB14 (使用前请先检查是否加入无水乙醇), 12,000×g离心30秒, 弃去流出液。
- 6、重复步骤5一次。
- 7、12,000×g离心2分钟, 彻底去除残留的WB14。
- 8、将离心柱柱置于一干净的离心管中, 在柱的中央加入30-100 μl预热EB(65℃), 或无菌去离子水 (pH>7.0) 室温静置1分钟, 12,000×g离心1分钟, 洗脱DNA。
- 9、为得到更多的DNA, 进行第二次洗脱, 在柱的中央加入30-100 μl预热EB (65℃), 或无菌去离子水 (pH>7.0) 室温静置1分钟, 12,000×g离心1分钟, 洗脱DNA。洗脱出的DNA于-20℃保存。

注意事项

- 样品用量不宜过多或过少, 以免影响提取效果。
- 尽量切碎组织, 以免影响裂解效果; 完全裂解后溶液呈粘稠状, 非凝胶状。
- 为保证所提取DNA的质量, 使用新鲜的材料, 避免反复冻融; DNA 的质量取决于材料的种类, 保存的方式、时间等。
- 使用无菌离心管和枪头, 避免DNase污染。
- 第二次洗脱建议用第一次洗脱的液体或再加入比第一次少量的洗脱液, 以免影响提取浓度。
- 微量样品提取所得基因组较少, 尤其是血清/血浆等等, 故这些样品所得基因组不建议琼脂糖电泳和分光光度计定量检测。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V1-202008

服务投诉电话 +86-10-57815020

服务投诉邮箱 complaints@transgen.com.cn

