

Micro DNA Kit

微量样品基因组 DNA 提取试剂盒

目录号: **DNE07**

试剂盒组成

Component	DNE07-01 (50 preps)	DNE07-02 (100 preps)
Buffer SL	15 ml	25 ml
Buffer VL	15 ml	25 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2	13 ml	25 ml
	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	
Buffer EB	10 ml	20 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml	1 ml x 2
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

保存方法

室温 (15-30°C) 保存。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒适合从小剂量的血液、干血点、血清/血浆、漱口水、毛发/毛囊、微量组织、微切割样品等微量组织中提取基因组 DNA，纯化过程无需苯酚/氯仿等有机试剂。

采用优化的缓冲体系使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，而其他杂质可流过膜，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度 DNA，可以直接用于 PCR、Real-Time PCR、酶切、分子标记等下游实验。

样品使用量的确定

吸附柱最大容量	700 μ l
最小洗脱体积	20 μ l
抗凝全血（哺乳动物）	最大量 100 μ l
样品使用最大量（动物组织）	最大量 10 mg

自备试剂

无水乙醇；1 M DTT（提取毛囊毛发）

注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 储存温度低时若缓冲液 SL 或 VL 中有沉淀，可在 37°C 水浴中重新溶解后使用。
3. 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇，混匀后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

1. 材料处理

1-1 从少量血中提取基因组 DNA

- a) 取 1-100 μ l 血液到 1.5 ml 离心管中，如果不足 100 μ l，则加入 Buffer SL 补足到 100 μ l。
- b) 加入 10 μ l Proteinase K 溶液，充分混匀，再加入 100 μ l Buffer VL，立刻涡旋振荡充分混匀，在 70°C 放置 10 分钟。
- c) 冷却后加入 50 μ l 无水乙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，室温放置 3 分钟。如果周围环境高于 25°C，乙醇需要冰上预冷后再加入。
- d) 接步骤 2 往下做。

1-2 从干血点中提取基因组 DNA

- a) 用打孔机打孔的方法在血卡（上面有干血点）上冲取 3 mm（1/8 英寸）直径血卡小片（上面有干血点），取三片直径 3 mm 的样品放入 1.5 ml 的离心管中。
- b) 加入 180 μ l Buffer SL 溶液。
- c) 加入 20 μ l Proteinase K 溶液，涡旋振荡充分混匀。56°C 孵育 1 小时，期间每 10 分钟涡旋 10 秒。也可以置于水浴振荡仪中消化。

- d) 加入 **200 µl Buffer VL**，涡旋振荡充分混匀，70°C 孵育 10 分钟，期间每 3 分钟涡旋 10 秒。也可以置于水浴振荡仪中消化。
- e) 冷却后加入 200 µl 无水乙醇，涡旋振荡充分混匀。如果周围环境高于 25°C，乙醇需要冰上预冷后再加入。
- f) 接步骤 2 往下做。

1-3 从血清/血浆中提取循环核酸/游离核酸

- a) 取 100-200 µl 血清、血浆或无细胞体液到一个离心管中，如不足 100 µl，加 Buffer SL 补足至 100 µl。
- b) 加入 **20 µl Proteinase K** 溶液，涡旋混匀。
- c) 加入 **200 µl Buffer VL**，涡旋振荡 15 秒，56°C 放置 10 分钟，并不时摇动样品。
- d) 加入 200 µl 无水乙醇（如果室温高于 25°C，请将乙醇置冰上预冷），涡旋振荡混匀。
- e) 接步骤 2 往下做。

1-4 从漱口水中提取基因组 DNA

- a) 在 50 ml 无菌管中加入 10-20 ml 漱口水样品，800 rpm (~1,800×g) 离心 5 分钟，将上清小心倒掉。
- b) 向沉淀中加入 **200 µl Buffer SL** 重悬，将全部悬液转移至 1.5 ml 离心管中。
- c) 加入 **20 µl Proteinase K** 溶液，涡旋 10 秒混匀，56°C 放置 1 小时，期间每 10 分钟涡旋混匀一次。
- d) 加入 **200 µl Buffer VL**，涡旋振荡 15 秒，70°C 放置 10 分钟，并不时摇动样品。
- e) 加入 200 µl 无水乙醇（如果室温高于 25°C，请将乙醇置冰上预冷），涡旋振荡混匀。
- f) 接步骤 2 往下做。

1-5 从毛囊中提取基因组 DNA（请提前准备 1M DTT 溶液）

- a) 含毛囊的毛发：在 1.5 ml 离心管中加入 **250 µl Buffer SL**，**20 µl Proteinase K** 和 **20 µl 1 M DTT**，混匀。从毛发根部毛囊处取 1 cm 长的一段，与上述溶液涡旋混匀 10 秒。
- b) 56°C 孵育直到样本充分降解消化。需要时间至少 1 小时，期间每隔 20 分钟涡旋 10 秒混匀；或者置于水浴振荡仪中消化。
注意：裂解时间根据样本不同有所差异，一般毛发需要 1 小时；也可以过夜消化。羽茎样本不会完全消化，对于未消化完全的羽茎样本，可以直接 12,000 rpm 离心 1 分钟，取上清液进行后续步骤。
- c) 加入 **300 µl Buffer VL**，涡旋振荡 15 秒，56°C 放置 10 分钟，并不时摇动样品。
- d) 加入 300 µl 无水乙醇，涡旋振荡充分混匀。
- e) 接步骤 2 往下做。

1-6 从微量组织中提取基因组 DNA

- a) 取不超过 10 mg 的组织到 1.5 ml 的离心管中，加入 **180 µl Buffer SL**。
- b) 加入 **20 µl Proteinase K** 溶液，涡旋 10 秒混匀，56°C 孵育直到样本充分降解消化，需要时间大约 30 分钟到 1 小时，期间每 10 分钟涡旋混匀一次；或者置于水浴振荡仪中消化。
- c) 加入 **200 µl Buffer VL**，涡旋振荡充分混匀，70°C 孵育 10 分钟，期间每 3 分钟涡旋

10 秒，溶液应变清亮。**注意：如果有无法消化的沉淀，可以直接 12,000 rpm 离心 1 分钟，取上清液进行后续操作。**

- d) 加入 200 μ l 无水乙醇（如果室温高于 25 $^{\circ}$ C，请将乙醇置冰上预冷），涡旋振荡混匀。
- e) 接步骤 2 往下做。

1-7 从微切割样品中提取基因组 DNA（包括福尔马林固定的微切割样品）

- a) 加入 15 μ l Buffer SL 到 0.2 ml 离心管中，放入微切割样品。
- b) 加入 10 μ l Proteinase K 溶液，涡旋混匀 10 秒。
- c) 56 $^{\circ}$ C 孵育 3 小时使样本充分降解消化。若福尔马林样品需要孵育 16 小时，期间隔段时间需要涡旋混匀；或者置于水浴振荡仪中消化。简短离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
- d) 加入 25 μ l Buffer SL，混匀。再加入 50 μ l Buffer VL，涡旋混匀 10 秒，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
- e) 加入 50 μ l 的无水乙醇。如果室温超过 25 $^{\circ}$ C，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置 5 分钟，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
- f) 接步骤 2 往下做。

2. 将得到的溶液转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns AC）中。12,000 rpm 离心 30 秒，弃废液。

3. 向吸附柱 AC 中加入 500 μ l Buffer WB1，12,000 rpm 离心 30 秒，倒掉废液。

4. 向吸附柱 AC 中加入 600 μ l Buffer WB2（**使用前请检查是否已加入无水乙醇!**），12,000 rpm 离心 30 秒，倒掉废液。

5. 重复步骤 4。

6. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，弃掉收集管和废液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。

7. 将吸附柱 AC 放入一个新的 1.5 ml 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 20-50 μ l Buffer EB 或灭菌水，室温放置 3-5 min，12,000 rpm 离心 1 分钟，收集 DNA 溶液。-20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

注意：1）Buffer EB 在 56 $^{\circ}$ C 中预热可以增加产量。也可用无菌水洗脱，但应确保其 PH 在 7.0-8.5 范围内。

2）为增加基因组 DNA 的得率，可以将得到的 DNA 溶液重新加至吸附膜上，室温放置 2 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟。
