

Micro DNA Kit

微量样品基因组DNA提取试剂盒

目录号：A O 3 1 0 9

试剂盒组成

Component	D 3 1 0 9 (5 0 T)	D 3 1 0 9 (1 0 0 T)
Buffer SL	1 5 m l	2 5 m l
Buffer VL	1 5 m l	2 5 m l
Buffer WB1	2 5 m l	5 0 m l
Buffer WB2 (concentrate)	1 3 m l	2 5 m l
Buffer WB2 (concentrate)	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇
Buffer EB	1 0 m l	2 0 m l
Proteinase K (20 mg/ml)	1 m l	1 m l x 2
Spin Columns AC with Collection Tubes	5 0	1 0 0

保存方法

室温（15 - 30℃）保存。

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	7 0 0 μ l
最小洗脱体积	2 0 μ l
抗凝全血（哺乳动物）	最大量1 0 0 μ l
样品使用最大量（动物组织）	最大量1 0 m g

自备试剂

无水乙醇；1 M DTT（提取毛囊毛发）

注意事项

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。

储存温度低时若缓冲液SL或VL中有沉淀，可在37℃水浴中重新溶解后使用。

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）

材料处理

1 - 1 从少量血 / 泪液等液体样本中提取基因组DNA

取1 - 100 μ l血液 / 泪液等到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。

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℃放置10分钟。

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℃，乙醇需要冰上预冷后再加入。

接步骤2往下做。

1 - 2 从干血点中提取基因组DNA

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。

加入180 μ l Buffer SL溶液。

加入20 μ l Proteinase K溶液，涡旋振荡充分混匀。56℃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。

加入200 μ l Buffer VL，涡旋振荡充分混匀，70℃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。

冷却后加入200 μ l无水乙醇，涡旋振荡充分混匀。如果周围环境高于25℃，乙醇需要冰上预冷后再加入。

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

取100 - 200 μ l血清、血浆或无细胞体液到一个离心管中，如不足200 μ l，加Buffer SL补足至200 μ l。

加入20 μ l Proteinase K溶液，涡旋混匀。

加入200 μ l Buffer VL，涡旋振荡15秒，56℃放置10分钟，并不时摇动样品。

加入200 μ l无水乙醇（如果室温高于25℃，请将乙醇置冰上预冷），涡旋振荡混匀。

接步骤2往下做。

1 - 4 从漱口水中提取基因组DNA

在50 ml无菌管中加入10 - 20 ml漱口水样品，800 rpm（ $\sim 1, 800 \times g$ ）离心5分钟，将上清小心倒掉。

向沉淀中加入 200 μ l Buffer SL 重悬，将全部悬液转移至 1.5 ml 离心管中。

加入 20 μ l Proteinase K 溶液，涡旋 10 秒混匀，56℃ 放置 1 小时，期间每 10 分钟涡旋混匀一次。

加入 200 μ l Buffer VL，涡旋振荡 15 秒，70℃ 放置 10 分钟，并不时摇动样品。

加入 200 μ l 无水乙醇（如果室温高于 25℃，请将乙醇置冰上预冷），涡旋振荡混匀。

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）

含毛囊的毛发：在 1.5 ml 离心管中加入 250 μ l Buffer SL，20 μ l Proteinase K 和 20 μ l 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。

56℃ 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。

加入 300 μ l Buffer VL，涡旋振荡 15 秒，56℃ 放置 10 分钟，并不时摇动样品。

加入 300 μ l 无水乙醇，涡旋振荡充分混匀。

接步骤 2 往下做。

1 - 6 从微量组织中提取基因组 DNA

取不超过 10 mg 的组织到 1.5 ml 的离心管中，加入 180 μ l Buffer SL。

加入 20 μ l Proteinase K 溶液，涡旋 10 秒混匀，56℃ 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。

加入 200 μ l Buffer VL，涡旋振荡充分混匀，70℃ 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。

加入 200 μ l 无水乙醇（如果室温高于 25℃，请将乙醇置冰上预冷），涡旋振荡混匀。

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）

加入 15 μ l Buffer SL 到 0.2 ml 离心管中，放入微切割样品。

加入 10 μ l Proteinase K 溶液，涡旋混匀 10 秒。

56℃ 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。

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。

加入 50 μ l 的无水乙醇。如果室温超过 25℃，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。

接步骤 2 往下做。

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。

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

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。

重复步骤4。

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）。

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℃保存DNA。

注意：1) Buffer EB在56℃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。