

微量 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] MicroElute Genomic DNA Kit

货号	D3096-00	D3096-01	D3096-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
MicroElute [®] DNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	10 个	100 个	400 个
BL Buffer	5 mL	35 mL	125 mL
TL Buffer	5 mL	35 mL	125 mL
HBC Buffer	3 mL	25 mL	80 mL
OB Protease Solution	120 μ L	1.1 mL	4 x 1.1 mL
Linear Acrylamide (5 mg/mL)	25 μ L	125 μ L	500 μ L
DNA Wash Buffer	2 mL	15 mL	3 x 20 mL
Elution Buffer	5 mL	10 mL	30 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. OB Protease Solution 室温可放置 12 个月，长期保存建议放置 2-8°C；
3. 当贮存温度较低时，TL Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
4. 本试剂盒仅供科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	DNA Wash Buffer 稀释	HBC Buffer 稀释
	无水乙醇 加入量	异丙醇 加入量
D3096-00	8 mL	1.2 mL
D3096-01	60 mL	10 mL
D3096-02	80 mL (每瓶)	32 mL

★ 提取步骤 —— 动物组织样品

该方案适合从 < 10mg 的组织中分离 DNA。

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 1.5mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇
- ✓ 温度可达 55°C、70°C 的孵育装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ (可选) RNase A (25mg/mL)、无菌水、3M NaOH

1. 将 10mg 组织样品切碎，转移到 1.5mL 离心管中；
2. 加入 200 μ L TL Buffer；
3. 加入 20 μ L OB Protease Solution，涡旋混匀；
4. 置于水浴锅中 55°C 孵育；

注意：如果使用的水浴锅不带震动混匀功能，每隔 10-20min 对样品涡旋混匀一次，样品裂解时间取决于样品量以及类型，通常不超过 3 小时，不易裂解的样品可以消化过夜。

5. 常温最大速度(> 13,000xg)离心 2min 去除不溶解的杂质；
6. 转移上清液到新的 1.5mL 离心管中，小心注意不要打散转移到任何沉淀；

可选: 某些含 RNA 量多的组织如肝组织, 使用该试剂盒提取 DNA, RNA 会和被一起提取得到。虽然 RNA 存在不影响 PCR 实验, 但如果有需要去除, 可以按照以下步骤操作:

1. 每 10mg 组织加入 5 μ L RNase A (25 mg/mL) ;
2. 室温放置 2min;
3. 按照步骤 7 继续操作。

7. 加入 220 μ L BL Buffer, 涡旋混匀;

注意: 如果需要 Linear Acrylamide (5 mg/mL), 在 220 μ L BL Buffer 中加入 1-2 μ L Linear Acrylamide。

8. 70 $^{\circ}$ C 孵育 10min;

9. 加入 220 μ L 无水乙醇, 涡旋彻底混匀; 加入无水乙醇后可能会形成絮状沉淀, 这不影响 DNA 的回收;

10. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套入收集管中;

可选柱平衡处理:

1) 往空 MicroElute[®] DNA Mini Columns 内加入 100 μ L 3M NaOH, 静置 4min;

2) 室温下 13,000xg 离心 30-60s, 弃除滤液, 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套入收集管中。

11. 转移第 9 步得到的混合液到结合柱中 (每次转移的混合液 \leq 700 μ L), 室温 12,000xg 离心 1min, 弃滤液和收集管;

12. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套入新的收集管中, 加入 500 μ L HBC Buffer (已加异丙醇稀释) 至结合柱中, 12,000xg 离心 30s, 弃滤液;

注意: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。

13. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套回收集管中, 加入 700 μ L DNA Wash Buffer (已加无水乙醇稀释) 至结合柱中, 12,000xg 离心 1min, 弃滤液;

注意: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

14. 重复步骤 13;
15. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套回收集管中, 12,000xg 离心空甩 2min。
16. 将 MicroElute[®] DNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管, 加入 10-50 μ L 70°C 预热的 Elution Buffer 至结合柱中, 室温放置 3min, 然后 12,000xg 离心 1min 洗脱 DNA;
17. DNA 产物放置 -20°C 保存。

★ 提取步骤 —— 小体积血液、血清及体液样品

该方案适合从 1-100 μ L 抗凝全血、血清、血浆、血液黄层、唾液以及尿液中分离 DNA。

用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
 - ✓ 无核酸酶的 1.5mL 离心管
 - ✓ 无水乙醇、异丙醇、PBS 缓冲液
 - ✓ 温度可达 70°C 的孵育装置
 - ✓ 涡旋仪
 - ✓ (可选) 3M NaOH、无菌水
1. 加 1-100 μ L 的样品 (样品需恢复到常温) 到 1.5 mL 离心管, 用 PBS 缓冲液把样品体积调整到 100 μ L。
 2. 加入 20 μ L OB Protease Solution, 涡旋混匀。
 3. 加 120 μ L BL Buffer, 涡旋混匀。
 4. 置于水浴锅中 70°C 孵育 10min。
 5. 加 160 μ L 异丙醇, 涡旋混匀 15s。可能会形成絮状沉淀, 这不影响 DNA 的回收, 短暂离心收集管盖液体。
 6. 按照“动物组织提取流程”的步骤 10-17 继续操作。

★ 提取步骤 —— 干血、体液以及精斑样品

该方案适合提取滤纸片上的干血、体液以及精液的 DNA。

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 1.5mL 或 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇
- ✓ 温度可达 55°C、70°C 的孵育装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ (可选) 无菌水、DTT、3M NaOH

1. 将滤纸上的干血 (或其它样品) 剪下来, 并切成小块放置于一新的 1.5 mL 无酶离心管中。每一份使用 1-3 片 (直径~3mm) 的滤纸片;
2. 加 200 μ L TL Buffer, 20 μ L OB Protease Solution, 涡旋混匀; 如果处理的样品是精斑, 每个样品还需要加 20 μ L DTT;
3. 置于振荡水浴锅中 55°C 孵育 45-60min;
注意: 如果使用的水浴锅不带振荡混匀功能, 每隔 10-20 min 对样品涡旋混匀一次。
4. 短暂离心收集管盖液滴, 加入 220 μ L BL Buffer, 涡旋混匀;
注意: 如果样品只有一片滤纸片, 每个样品加入 1 μ L Linear Acrylamide (5 mg/mL)。
5. 水浴锅中 70°C 孵育 10min, 孵育期间高速涡旋 10s 数次;
6. 室温 12,000xg 离心 5min; 转移上清液到一新的无菌 1.5 mL 离心管中, 注意不要吸到沉淀物;
注意: 为了获得最大的提取率, 不残留任何液体在滤纸上, 建议把滤纸和消化液全部转移到 Omega Homogenizer Column (试剂盒内不提供, 货号 HCR003), 12,000xg 离心 2 min 收集滤液。
7. 加入 220 μ L 无水乙醇, 涡旋混匀;
8. 按照“动物组织提取流程”的步骤 10-17 继续操作。

★ 提取步骤 —— 棉签拭子样品

该方案适合从精液拭子、血液拭子以及口腔拭子样品中提取 DNA。

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇
- ✓ 温度可达 55°C、70°C 的孵育装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ (可选) 无菌水、DTT、3M NaOH

1. 把棉签拭子样品放置 2 mL 离心管中；
2. 加入 600 μ L TL Buffer, 20 μ L OB Protease Solution, 高速涡旋 30s 混匀。如果是精液拭子, 每个样品还需要加 20 μ L DTT；
3. 置于振荡水浴锅中 55°C 孵育 60min；
注意：如果使用的水浴锅不带振荡混匀功能, 每隔 10-20 min 对样品涡旋混匀一次。
4. 短暂离心收集管盖液滴, 加入 620 μ L BL Buffer, 高速涡旋混匀 20s；
5. 70°C 孵育 10min, 孵育期间高速涡旋 10s 混匀几次；
6. 室温 12,000xg 离心 5min；转移上清液到新的 2mL 离心管中；
7. 加入 620 μ L 无水乙醇, 高速涡旋 15s 彻底混匀, 短暂离心收集管盖液滴；
8. 按照“动物组织提取流程”的步骤 10-17 继续操作。

★ 提取步骤 —— 法医样品

该方案适合从各种法医样品中提取 DNA，例如：头发、烟头、指甲以及带血液、唾液和精液的材料。

1. 把样品切成小块放置 2 mL 离心管中；
2. 加入 300 μ L TL Buffer，高速涡旋 30s 混匀。如果是处理精液污染样品，每个样品还需要加 20 μ L DTT；
3. 加入 20 μ L OB Protease Solution，高速涡旋 30s 混匀；
4. 至于振荡水浴锅中 55 $^{\circ}$ C 孵育 60min；
注意：如果使用的水浴锅不带振荡混匀功能，每隔 10-20min 对样品涡旋混匀一次。裂解时间取决于样品的数量以及类型，大约在 1h 以内。如果是剪下来的指甲样品，建议消化过夜以获得最大的产量。
5. 短暂离心收集管盖液滴，加入 320 μ L BL Buffer，高速涡旋混匀 20s；
6. 70 $^{\circ}$ C 孵育 10min，孵育期间高速涡旋 10s 混匀几次；
7. 室温 12,000xg 离心 5min；转移上清液到新的 2mL 离心管中；
8. 加入 320 μ L 无水乙醇，高速涡旋 15s 彻底混匀，短暂离心收集管盖液滴；
9. 按照“动物组织提取流程”的步骤 10-17 继续操作。

★ 产品信息卡



更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读

常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司

技术支持：020-32051125

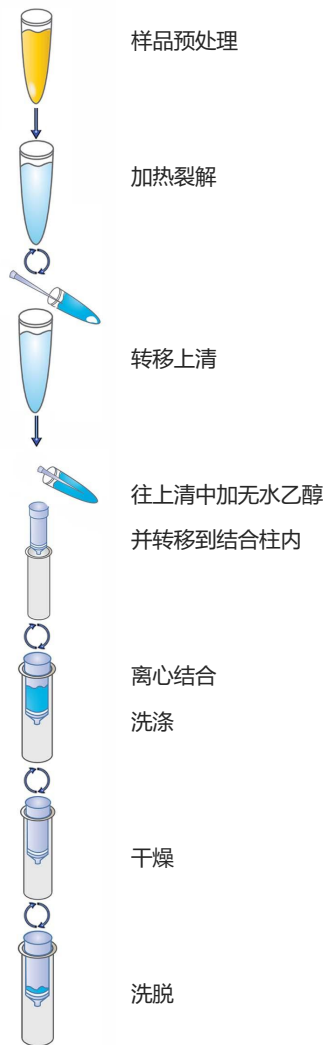
企业 QQ：800848200（人工客服在线）

中文网站：omegabiotek.com.cn

如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

★ 提取步骤示意图

离心操作流程



真空抽滤操作流程

