

For research use only

Version Number: 1.1

## Genomic DNA Micro Kit

For genomic DNA purification from small volumes of blood, dried blood spots, laser-microdissected tissues, tissues, and so on

试剂盒组成	DM-01011
	50 T
Buffer ST1	15 mL
Buffer ST2 *	15 mL
Buffer PW *	25 mL
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease	1 mL
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

\*: Buffer ST2、Buffer PW 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

### 产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的 DNA-Only Column、全新的 Foregene Protease 以及独特的缓冲液体系，可以在 20-80 分钟内高效从各种微量生物样本中，例如：微量血液、细胞、动物组织、干燥血迹、临床棉签、毛囊等，纯化得到到较高浓度、高质量的基因组 DNA。

离心柱中采用的 DNA-Only 硅胶膜为本公司特有新型材料，高效、专一吸附 DNA，可最大限度的去除 RNA、杂质蛋白、离子及细胞中其他有机化合物。专门设计的微小纯化柱结合基因组 DNA，可用微量 (15  $\mu$ L) 洗脱液洗脱 DNA，提高获得的基因组 DNA 的浓度，便于下游检测或实验。

### 储存条件

- ❖ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。
- ❖ Foregene Protease 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

### 操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

#### A、从微量抗凝血液中提取基因组DNA

1. 取 1-100  $\mu$ L 抗凝血液到 1.5 mL 离心管中。
2. 不足 100  $\mu$ L 的血液样本加 **Buffer ST1** 补足到 **100  $\mu$ L**。
3. 加入 **10  $\mu$ L Foregene Protease**，涡旋混匀，置于 **65°C**，孵育 **10 min**。
4. 加入 **100  $\mu$ L Buffer ST2**，轻轻颠倒混匀，瞬时离心以去除管盖及内壁的液滴。
5. 将离心管放置于 **65°C** 金属浴或水浴中 **10 min**，每间隔 3 min 轻摇混匀一次。
6. 将混合液全部转移至离心柱(DNA-Only Column)中，12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1min，弃掉收集管中的废液。
7. 将离心柱放回收集管中，向离心柱中加入 **500  $\mu$ L Buffer PW**，12,000rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1min，弃掉收集管中的废液。
8. 将离心柱放回收集管中，向离心柱中加入 **700  $\mu$ L Buffer WB**，12,000rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 将离心柱放回收集管中，12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 空管离心 2 min。
11. 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中，向膜中央悬空滴加 **15-100  $\mu$ L** 已于 **65°C** 预热的 **Buffer EB** (切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 5 min，12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min。

#### B、从干血点中提取基因组DNA

1. 取 1-3 片直径约为 3 mm 的血斑(或血卡)样品到 1.5 mL 离心管中。
2. 加入 **180  $\mu$ L Buffer ST1**，**20  $\mu$ L Foregene Protease**，轻微振荡混匀。
3. 将离心管于 **65°C**，放置 **30-60 min**，其间每间隔 15 min 涡旋混匀一次(或用手指用力弹击离心管底部数次)以帮助动物血斑酶解。
4. 加入 **200  $\mu$ L Buffer ST2**，轻轻颠倒混匀，瞬时离心以去除管盖及内壁的液滴。
5. 将离心管放置于 **65°C** 金属浴或水浴中 **10 min**，其间每间隔 3 min 轻摇混匀一次。
6. 将所得混合液全部转移至离心柱(DNA-Only Column)中，12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
7. 将离心柱放回收集管中，向离心柱中加入 **500  $\mu$ L Buffer PW**，12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。
8. 将离心柱放回收集管中，向离心柱中加入 **700  $\mu$ L Buffer WB**，12,000 rpm (~13,400  $\times$ g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。

9. 重复步骤 8 一次。
10. 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm(~13,400×g)空管离心 2 min。
11. 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **15-100 μL** 已于 **65°C**预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm(~13,400 ×g) 离心 1 min。

### C、从微量动物组织中提取基因组DNA

1. 取不超过 10 mg 动物组织到 1.5 mL 离心管中。将组织尽量切成小块, 以提高裂解效率。
2. 加入 **180 μL Buffer ST1**, **20 μL Foregene Protease**, 涡旋混匀。瞬时离心以收集附着在管盖及内壁的液体。
3. 将离心管放置于 **65°C**金属浴或水浴中 **30-60 min**, 其间每间隔 15 min 涡旋混匀一次(或用手指用力弹击离心管底部数次)以帮助动物组织酶解。
4. 加入 **200 μL Buffer ST2**, 涡旋混匀, 瞬时离心以收集附着在管盖及内壁的液体。
5. 将离心管放置于 **65°C**, 放置 **10 min**, 其间每间隔 3 min 涡旋混匀一次。
6. 将所得混合液全部转移至离心柱(DNA-Only Column)中, 12,000 rpm(~13,400 ×g) 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
7. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **500 μL Buffer PW**, 12,000 rpm(~13,400 ×g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
8. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **700 μL Buffer WB**, 12,000rpm(~13,400 ×g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
9. 重复步骤 8 一次。
10. 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm(~13,400 ×g) 空管离心 2 min。
11. 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **15-100 μL** 已于 **65°C**预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm(~13,400 ×g) 离心 1 min。

### D、从漱口水中提取基因组DNA

1. 在 50 mL 无菌管中加入 **10-20 mL 漱口水**样品, 1,800 ×g 离心 5 min, 将上清小心倒掉或用移液器小心吸除上清液。
2. 向沉淀中加入 **180 μL Buffer ST1**, 重悬沉淀, 将全部悬液转移至 1.5 mL 离心管中。
3. 加入 **20 μL Foregene Protease**, 涡旋混匀。瞬时离心以收集附着在管盖及内壁的液体。
4. 将离心管放置于 **65°C**金属浴或水浴中 **30-60 min**, 其间每间隔 15 min 涡旋混匀一次(或用手指用力弹击离心管底部数次)以帮助细胞酶解。
5. 加入 **200 μL Buffer ST2**, 涡旋混匀, 瞬时离心以收集附着在管盖及内壁的液体。

6. 将离心管放置于 **65°C**金属浴或水浴中 10 min, 其间每间隔 3 min 涡旋混匀一次。
7. 将所得混合液全部转移至离心柱(DNA-Only Column)中, 12,000 rpm(~13,400 ×g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
8. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **500 μL Buffer PW**, 12,000 rpm(~13,400 ×g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
9. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **700 μL Buffer WB**, 12,000 rpm(~13,400 ×g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
10. 重复步骤 9 一次。
11. 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm(~13,400 ×g)空管离心 2 min。
12. 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **15-100 μL** 已于 **65°C**预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm(~13,400 ×g) 离心 1 min。

### E、从毛囊中提取基因组DNA

1. 取 1 根含毛囊的毛发: 在 1.5 mL 离心管中加入 **250 μL Buffer ST1**, **20μl Foregene Protease**, **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。
2. 将离心管放置于 **65°C**金属浴或水浴中 **1 hr**, 其间每间隔 15 min 涡旋混匀一次; 或者置于水浴振荡仪中消化, 消化至毛发断裂为小段或发生卷曲即可。瞬时离心以收集附着在管壁及管盖的液体。  
注意: 裂解时间根据样本不同有所差异, 一般毛发需要 40-60 min。羽茎样本不会完全酶解, 对于未酶解完全的羽茎样本, 可以直接以 12,000 rpm(~13,400 ×g)离心 5 min, 取上清液进行后续实验。
3. 加入 **300 μL Buffer ST2**, 涡旋混匀, 瞬时离心以收集附着在管壁及管盖的液体。
4. 将离心管放置于 **65°C**金属浴或水浴中 **10 min**, 每间隔 3 min 涡旋混匀一次。
5. 将所得混合液全部转移至离心柱中, 12,000 rpm(~13,400 ×g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
6. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **500 μL Buffer PW**, 12,000rpm(~13,400 ×g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
7. 将离心柱放回收集管中, 向离心柱中加入 **700 μL Buffer WB**, 12,000rpm(~13,400 ×g)离心 1 min, 弃掉收集管中的废液。
8. 重复步骤 7 一次。
9. 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm(~13,400 ×g)空管离心 2 min。
10. 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **15-100 μL** 已于 **65°C**预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm(~13,400 ×g) 离心 1 min。