

EasyPure® Genomic DNA Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EE101

版本号: Version 2.0

保存: 试剂盒在室温(15-25°C)干燥条件下保存一年。

产品说明

本试剂盒采用酶解法裂解细胞, 利用硅胶膜离心柱特异地吸附DNA, 适用于从多种材料(动物细胞、动物组织、鼠尾、大肠杆菌、酵母)中高效地提取基因组DNA。提取的DNA适用于酶切、PCR、Southern Blot等实验。

特点

- 提取速度快, 提取量高(高达 15 µg)。
- 裂解条件温和, 无需对材料进行物理破碎, 减少了细胞裂解过程中对基因组DNA的损伤。
- 纯度高, 离心柱高效, 特异吸附DNA。去除蛋白质、盐类、脂类等杂质, 有效地保持基因组DNA的完整性。

试剂盒组成

Component	EE101-01/11 (50 rxns)	EE101-02/12 (200 rxns)
Lysis Buffer 2 (LB2)	6 ml	24 ml
Binding Buffer 2 (BB2)	28 ml	110 ml
Clean Buffer 2 (CB2)	15 ml	60 ml
Wash Buffer 2 (WB2)	12 ml	2×22 ml
Elution Buffer (EB)	25 ml	80 ml
RNase A (20 mg/ml)	1 ml/-	4×1 ml/-
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml	4×1 ml
Genomic Spin Columns with Collection Tubes	50 each	200 each

样品要求

Material	Amount
Mammalian Cell	1-5×10 ⁶ cell
Mammalian Tissues	≤25 mg
Mouse Tail	0.5 cm sections
<i>E.coli</i> Cells	≤2×10 ⁹ cell
Yeast Cells	≤5×10 ⁷ cell

操作步骤

使用前加不同体积100%乙醇到CB2和WB2。

Component	EE101-01/11 (50 rxns)	EE101-02/12 (200 rxns)
Clean Buffer 2 (CB2)	15 ml	60 ml
Wash Buffer 2 (WB2)	48 ml	2×88 ml

所有离心均在室温下进行。

1、材料处理

• Mammalian Cells

- 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 溶液 LB2, 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。



• Mammalian Tissues

提前准备 55°C 水浴或金属浴

- (a) 将 ≤25 mg (脾 ≤10 mg) 切碎的动物组织置于一无菌的 1.5 ml 离心管中。
- (b) 加入 100 μl LB2 和 20 μl Proteinase K (确保组织完全进入离心管中)。
- (c) 55°C 孵育直至完全裂解 (大约 3 小时, 因组织不同而异, 鼠尾大约 6-8 小时, 可以过夜裂解, 每小时颠倒 2-3 次)。

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。

- (d) 12,000×g 离心 5 分钟, 转移上清于一无菌的离心管中。

• E. coli Cells

提前准备 55°C 水浴或金属浴

- (a) 取细菌培养液 1-5 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 LB2 和 20 μl Proteinase K, 振荡至菌体彻底悬浮。
- (c) 55°C 孵育 15 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。

• Yeast Cells

□ 提前准备 37°C, 55°C 水浴或金属浴

□ 自备新鲜山梨醇 Buffer (1 M sorbitol, 10 mM EDTA, 14 mM β-mercaptoethanol)

□ 自备 lyticase

- (a) 收集酵母细胞 (≤5×10⁷ 细胞), 12,000×g 离心 1 分钟, 尽量吸净上清。
- (b) 向菌体沉淀中加入 500 μl 山梨醇 Buffer, 15 units lyticase, 37°C 水浴孵育 1 小时。
- (c) 5,000×g 离心 10 分钟, 弃上清。
- (d) 向菌体沉淀中加入 100 μl LB2 和 20 μl Proteinase K, 振荡至菌体彻底悬浮。
- (e) 55°C 孵育 45 分钟。

- (f) 12,000×g 离心 5 分钟, 转移上清于一无菌的离心管中。

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。

2、加入 500 μl BB2, 立即涡旋 5 秒钟, 室温孵育 10 分钟。

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 CB2 (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。

5、加入 500 μl 溶液 WB2 (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 WB2。

8、将离心柱置于一干净的离心管中, 在柱的中央加入 50-200 μl 预热 EB (60°C-70°C), 或去离子水 (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 50-200 μl 预热 EB (60°C-70°C), 或去离子 (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°C 保存。

注意事项

- 样品用量不宜过多, 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, 裂解液呈粘稠状, 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, 保存的时间等。
- 使用无菌离心管和枪头, 避免 DNase 污染。
- 第二次洗脱可以使用相同的离心管或不同的离心管。

本产品仅供研究, 不用于临床诊断。

版本号: V2.0-202306

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

