

QIAamp DNA Mini Kit 使用说明

一、组织 DNA 提取实验步骤

【说明】

DNA 得率与组织类型和量均相关。

1 mg 组织的 DNA 得率大约是 0.2-1.2 μg 。

【实验步骤】

1. 定量组织，不要超过 25 mg（10 mg 脾脏组织）。
2. 2 ml 离心管里加入 80 μl PBS，称量的组织 25 mg 加入到 PBS 中，用匀浆器充分搅打至无颗粒；
3. 加入 100 μl Buffer ATL，20 μl 蛋白酶 K，充分混匀，56 $^{\circ}\text{C}$ 温育至组织充分裂解（必要时过夜）；
4. 加入 4 μl RNase A（100 mg/ml），混匀，室温温育 2 分钟；
5. 加入 200 μl Buffer AL，混匀，70 $^{\circ}\text{C}$ 温育 10 分钟，短暂离心；
6. 加入 200 μl 无水乙醇，混匀 15 秒，短暂离心，加入 QIAamp Mini spin column 中，（200 μl 样本 : 200 μl 无水乙醇），离心，8,000 rpm，1 分钟，弃废液；
7. 加入 500 μl AW1，离心，8,000 rpm，1 分钟，弃废液；
8. 加入 500 μl AW2，离心，14,000 rpm，3 分钟，弃废液；
9. QIAamp Mini spin column 管离心，最高速，1 分钟；
10. 加入 30 μl ddH₂O 于硅胶膜中央，室温孵育 1 分钟，离心，8,000 rpm，1 分钟，洗脱 DNA，为提高得率可以重复一次洗脱。

二、全血及体液 DNA 提取实验步骤

【说明】

抗凝血 DNA 抽提时选择用 EDTA-、柠檬酸-、ACD 等抗凝全血，最好不要用肝素抗凝。

200 μ l 全血的 DNA 得率大约是 3-12 μ g。

【实验步骤】

1. 200 μ l Blood sample 加入到 1.5 ml 离心管里，加入 20 μ l proteinase K，充分混匀；
2. 加入 200 μ l Buffer AL，充分混匀 15 秒，56℃温育 10 min，短暂离心；
3. 加入 200 μ l 无水乙醇，混匀 15 秒，短暂离心，加入 QIAamp Mini spin column 中，(200 μ l 样本 : 200 μ l 无水乙醇)，离心，8,000 rpm，1 分钟，弃废液；
4. 加入 500 μ l AW1，离心，8,000 rpm，1 分钟，弃废液；
5. 加入 500 μ l AW2，离心，14,000 rpm，3 分钟，弃废液；
6. QIAamp Mini spin column 管离心，最高速，1 分钟；
7. 加入 30 μ l ddH₂O 于硅胶膜中央，室温孵育 1 分钟，离心，8,000 rpm，1 分钟，洗脱 DNA，为提高得率可以重复一次洗脱。