DNA extraction (New kit)

By Hsuan-Tung Lin

Materials:

1. DNeasy PowerSoil Pro Kit (250) (QIAGEN cat. # 47016)

* Solution CD2 到達後應保存於2-8°C。
* Solution CD3若有沉澱物產生，可將其加熱至60°C，直到沉澱消失。

1. 經前處理過的樣本

Methods:

1. 將 0.25 g 的樣本與 800 μL Solution CD1 添加至 PowerBead Pro Tube，並 vortex 以均質化。
2. 將 PowerBead Pro Tube 水平放置於大飛碟盤上，以最高速 vortex 10 分鐘。

(若於大飛碟盤放置超過12個樣本，可將時間再增加 5-10 分鐘)

1. 於 15,000 x g，離心 1 分鐘。
2. 吸取 500 – 600 μL 上清液至新的 2 mL tube。
3. 加入 200 μL Solution CD2，並 vortex 5 秒。
4. 於 15,000 x g，離心 1 分鐘。
5. 避開 pellet，吸取至多 700 μL 上清液至新的 2 mL tube。
6. 加入 600 μL Solution CD3，並 vortex 5 秒。
7. 取出 MB Spin Column，添加 650 μL 混合液，於 15,000 x g，離心 1 分鐘。
8. 移除濾液，重複步驟 9，直到所有混合液皆通過MB Spin Column。
9. 將 MB Spin Column 移至新的 2 mL tube。
10. 添加 500 μL Solution EA，於 15,000 x g，離心 1 分鐘。
11. 移除濾液，添加 500 μL Solution C5，於 15,000 x g，離心 1 分鐘。
12. 將 MB Spin Column 移至新的 2 mL tube。
13. 於 16,000 x g，離心 2 分鐘。
14. 將 MB Spin Column 移至新的 1.5 mL tube。
15. 加入 30-50 μL ddH2O 至濾膜中心，並於 50°C 加熱 30 min。

(ddH2O 可事先於 50°C 加熱)

1. 於 15,000 x g，離心 1 分鐘，移除 MB Spin Column。
2. 將 DNA 保存在-20 或-80°C。