

EchoLUTION培养细胞DNA试剂盒说明书

用于从培养细胞中一步纯化基因组DNA该操作流程已开发用于从高达 1×10^6 人的样本中提取基因组DNA或动物细胞（培养或原代细胞）。

所需材料和设备

- 高达 1×10^6 人或动物细胞
- 带转子的微型离心机，适配于1.5和2ml反应管
- 带振荡的恒温混匀仪（性能最快），能够加热至 60°C 。或者：加热块或加热室
- 涡旋器
- 10 μl 和200 μl 刻度的移液器，相应的移液器枪头（2个1.5ml, 1个2ml反应管）
- 每个样品一个反应管（1.5 ml），用于裂解步骤（最好带安全帽）
- 每个样品一个反应管（2 ml），用于色谱柱制备。
- 每个样品一个反应管（1.5 ml），用于洗脱和收集纯化DNA
- 对于最快程序（操作流程1）：盖冲孔器（BioEcho产品编号050-001-001）

实验前的准备

- 将恒温混匀仪或加热块加热至 60°C 。
- 将微型离心机设置为2000 x g*（细胞颗粒）或1000 x g*（色谱柱）。
- 注意事项：切换至相对离心力，rcf（x g*，而非rpm）。

操作流程1：使用穿帽器进行纯化

裂解

1. 通过在1.5ml培养溶液中以2000 x g离心1分钟的方式收获细胞（最多 1×10^6 个细胞）反应管，小心地去除上清液。

注意事项：确保在此步骤中保留细胞颗粒。

2. 添加55 μl 细胞裂解缓冲液^(LB)和25 μl TurboLyse C蛋白酶^(P)，并用涡旋重悬细胞颗粒。如果使用两个以上的样品，准备裂解主混合物体积比样品数量所需的体积大10%。

注：细胞裂解缓冲液中如含有不溶性研磨材料，需要在吸取之前通过涡旋进行研磨。

裂解混合物：

样品数量	1	6 (+10%)	12 (+10 %)	自己的
^(LB) 细胞裂解液 (μl)	55	370	730	
^(P) TurboLyse C 蛋白酶混合物 (μl)	25	170	330	
最终体积 (μl)	80	540	1,060	

3. 向细胞颗粒中添加80 μl 的裂解主混合物。通过涡旋震荡完全重悬细胞颗粒。



BioEcho cap puncher

4. 将反应管放置在热振荡器中，并在 60°C 温度下最大振荡孵育10分钟。（如果无振荡，则加热孵育分钟，并在裂解过程中涡旋震荡次。）
同时，在裂解过程中，继续进行步骤5“色谱柱制备”

柱制备（步骤4期间）

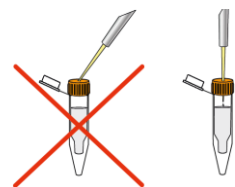
5. 短暂涡旋EchoLUTION色谱柱，并将其放入2ml反应管中。静置5-10分钟。
6. 使用穿帽器（扫描二维码观看视频）：在立柱盖子上打孔，并将柱连同盖打孔机一起从2 ml收集管中取出。掰断立柱的底部封盖，并通过顺时针旋转扭转分离盖冲孔器。将穿孔的色谱柱放回2ml反应管中。
7. 以1000 x g*离心1分钟。丢弃收集于2ml反应管中的缓冲液。
8. 将制备好的EchoLUTION色谱柱放入一个新的1.5 ml反应管中，放回支架准备为下一步进行分离洗脱样本DNA。
继续DNA 纯化”。

DNA的纯化

9. 执行步骤4后，添加10 μl 洗涤溶液^(CS)和1 μl 核糖核酸酶^(R)，向每个裂解样品施加四次10秒的涡旋震荡。使这个样品变得混浊。

注：加入前可将洗涤液与核糖核酸酶A混合。

10. 在室温下培养2分钟以去除RNA。
11. 以最大速度离心2分钟。
12. 将含有DNA的裂解上清液（最大100 μl ）转移到制备好的色谱柱上
步骤8中的EchoLUTION色谱柱，如图所示：



将移液器枪头尖端通过开孔的管盖上垂直插入纯化管内并缓慢地（5秒）把样品加到色谱柱中。

Note:

- 在加载裂解液上清液期间，不要用枪头尖端接触色谱柱色谱层！
- 可多次加载剩余上清液，且不会干扰纯化。

13. 以1000 x g*离心1分钟。纯化的基因组DNA洗脱到1.5 ml洗脱液中可立即应用于下游应用中。

洗脱的DNA可立即使用，或在 4°C 下储存，或在 4°C 下长期储存-20摄氏度。对于分光光度分析，使用试剂盒随附的1x Tris缓冲液^(T)（如适用）作为空白对照。

操作流程2：无需穿帽器的纯化

裂解

1. 执行操作流程1中的步骤1-4。

柱准备（步骤3期间）

5. 短暂涡旋EchoLUTION色谱柱，并将其放入2ml反应管中。静置5-10分钟。

6. 将色谱柱的螺帽拧松半圈，然后掰下底部封盖。

注意事项：不要重新拧紫色色谱柱的螺帽。螺帽必须保持松开半圈不动以避免产生真空。

将色谱柱放回2 ml反应管中，并将装有色谱柱的反应管放回离心机中。

7. 以1000 x g*离心1分钟。丢弃离心下来含有缓冲液的2ml反应管。

8. 将制备好的色谱柱放入一个新的1.5 ml反应管中，放回支架中用于洗脱溶液收集DNA样本。继续“DNA纯化”。

DNA的纯化

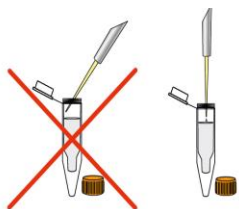
9. 执行步骤4后，添加10µl洗涤溶液 (CS) 和1µl核糖核酸酶 (R)，向每个裂解样品施加四次10秒的涡旋震荡。使样品变混浊。

注：加入前可将洗涤液与核糖核酸酶A混合。

10. 在室温下培养2分钟以去除RNA。

11. 全速离心2分钟。

12. 将含有DNA的裂解上清液（最大100µl）转移到制备好的色谱柱上
步骤8中的EchoLUTION色谱柱，如图所示：



打开色谱柱管盖，用移液器缓慢（5秒）将上清液加到准备好的色谱柱的色谱层中心上方。加完样后，关闭螺帽并再次拧松半圈。

重要事项：不要重新拧紫色色谱柱螺帽柱。

13. 以1000 x g*离心1分钟。纯化的基因组DNA洗脱到1.5 ml洗脱管中，可立即应用于下游应用。

产品使用限制

EchoLUTION Plant DNA试剂盒仅供研究使用。它未经注册或授权用于诊断、预防或治疗疾病。

注意事项：将离心机切换到相对离心力rcf (x g)；如果不是这样的话

请尽可能使用下面的公式*来计算每分钟转数，(rpm)转换成rcf

*大多数离心机提供rpm和g-force (rcf) 之间的选择；如果不是，则计算与重力匹配的转速使用以下公式： $rpm = 1,000 \times r$ ，r=转子半径，单位为mm。g为所需的g力。例如：半径为150 mm时，1000 x g的相应转速约为2400 rpm。

用于从培养细胞样品中一步纯化基因组DNA

产品编号 (rxn)	010-006-010 (10)	010-006-050 (50)	010-006-250 (250)
试剂盒内容物	细胞裂解缓冲液、TurboLyse C蛋白酶、洗涤液C、核糖核酸酶A、1x Tris缓冲液、色谱柱		

快速提取操作流程（请先阅读提取操作流程）

裂解

- 将最多 1×10^6 个培养细胞转移至反应管
- 以2000 x g的速度离心1分钟至细胞颗粒
- 在 55 µl + (LB) 25 µl (P) 中重悬细胞颗粒，涡旋震荡再悬浮细胞颗粒
- 在最大振荡且60°C条件下孵育10分钟

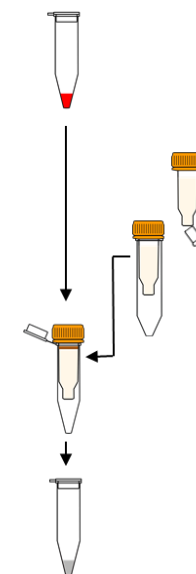
- 添加10 µl (CS) + 1 µl (R) 和脉冲涡旋4x10秒
- 以最大速度离心2分钟

柱制备（60°C培养期间）

- 涡旋震荡色谱柱，置于2ml试管中静置5-10分钟
- 用冲帽器在瓶盖上打一个孔，然后掰断管底部封盖
- 将色谱柱放回2ml反应管中
- 以1000 x g*离心1分钟，以洗脱色谱柱缓冲液
- 将色谱柱置于新的1.5 ml离心管中

DNA的纯化

- 通过移液器垂直慢慢穿过盖孔转移裂解液上清液（最大100µl）
- 以1000 x g*离心1分钟，将DNA洗脱到洗脱管中
- 洗脱DNA即可使用



200605_Vers 1.1_MMM



北京中生柏奥生物科技有限公司

BioEcho Life Sciences GmbH

手机：18610438010/18911671291

电话：400-188-6323

网站：www.bioecho.cn

