

EchoLUTION组织DNA微量试剂盒说明书

用于从组织样品中一步纯化基因组DNA

本操作流程适用于新鲜、冷冻和稳定的人和动物组织样本包括富含DNA酶（例如：脾脏、肝脏、肾脏）和脂质组织（例如：大脑、脂肪）。

所需材料和设备

- 根据组织类型，每个样品1至20 mg组织。
- 样本输入建议：

组织类型	常规	高DNA含量（如脾脏、肝脏、肾脏）	低DNA含量（肌肉、软骨）
总计	10 mg	5 mg	20 mg

- 带转子的微型离心机，用于1.5和2ml反应管
- 带搅拌的恒温混匀仪（最快性能），能够加热至60°C和80摄氏度。或者：加热块或加热室
- 涡流器
- 10µl和200µl刻度的移液器，相应的移液器枪头（2个1.5ml, 1个2ml反应管）
- 每个样品备一个反应管（1.5 ml），用于裂解步骤（最好带安全帽）。
- 每个样品备一个反应管（2 ml），用于柱制备。
- 每个样品备一个反应管（1.5 ml），用于洗脱和收集纯化DNA。

- 组织分割刀。BioEcho产品编号050-002-001
- 对于最快程序（操作流程1）：穿帽器（BioEcho产品编号050-001-001）

实验前的准备

- 将恒温混匀仪或热块加热至60°C
- 将微量离心机设置为1000 x g*
- 重要事项：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

- 将组织样品转移至1.5 ml反应管底部（最好带安全帽）当反应管在冰（或冷却块）上冷却时，避免DNA在冷却过程中降解样品。

Note:

- 将组织切成小块可以加速裂解。
- 对于保存液保存的组织样本，用水进行短暂冲洗，以去除残留的保存液。

- 向每个组织样品中添加90µl组织裂解缓冲液 (LB) 和5µl TurboLyse T蛋白酶 (P)。通过轻弹或旋转混合。

如果使用两个以上的样品，则准备一份含有10%过量的裂解主混合物组织样本数量的体积



BioEcho Cap Puncher



主混合物:

样品数量	1	6 (+10%)	12 (+10%)	自己的
(P) 组织裂解液 (µl) LB	90	600	1,190	
(LB) TurboLyse T 蛋白酶 (µl) P	5	35	70	
最终体积(µl)	95	635	1,260	

向每个组织样品中添加95µl的裂解混合物

- 将反应管置于恒温混匀仪中，并以最大振荡在60°C下孵育30分钟（如果没有振荡，则持续孵育60分钟，同时在裂解过程中脉冲涡旋3次）。

注：如果样品在上述时间段后未完全裂解，继续下一步。残留的碎屑不会干扰柱纯化性能。

注意：对于某些组织类型，裂解在15分钟后已经完成。步骤3需要相应地缩短。同时，在裂解过程中，继续进行步骤5“柱制备”。

- 在60°C下孵育后，将温度升高至80°C并以最大振荡额外孵育时间10分钟。

柱制备（在步骤3和4中）

- 短暂涡旋EchoLUTION色谱柱，并将其放入2ml反应管中。静置10-20分钟。
- 使用穿帽器（扫描二维码观看视频）：在色谱柱盖子上打孔，并将柱连同盖打孔机一起从2 ml收集管中取出。掰下色谱柱的底部封盖，并通过扭转来分离盖冲孔器，同时退出。将穿孔的色谱柱放回2ml反应管中。
- 以1000 x g*离心1分钟。丢弃收集于2ml反应管中缓存液。
- 将制备好的EchoLUTION色谱柱放入新的1ml反应管中便于后续进行洗脱提取纯化放回支架中。继续“DNA纯化”。

DNA的纯化

- 可选：执行步骤4后，向每个裂解样品中添加1µl RNA酶 (R)，并涡旋3秒。在室温下培养2分钟以去除RNA痕迹。

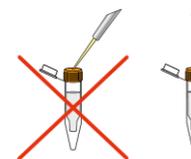
- 执行步骤4后，向每个样品中添加10µl的洗涤溶液T (CS)。涡旋3秒。使样品变得混浊。

- 全速离心2分钟。

- 将含有DNA的裂解上清液（最大100µl）转移到步骤8中的EchoLUTION色谱柱，如图所示：

Note:

- 在装载裂解液期间，不要触摸色谱层！
- 可装载残余样品颗粒，且不会干扰纯化。



- 以1000 x g*离心1分钟。纯化的DNA洗脱到1.5 ml洗脱管中并可立即应用于下游应用。

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。

柱制备

5. 短暂涡旋EchoLUTION色谱柱，并将其放入2ml反应管中。静置10-20分钟（建议在裂解步骤中进行）。
6. 将色谱柱的螺帽拧松半圈，然后掰下底部封盖。
注意事项：不要重新关闭色谱柱的螺帽。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收集管中，并将装有色谱柱的收集管都放回离心机中。
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1.5ml应管中，用于提取纯化放回支架。继续“DNA纯化”。

DNA的纯化

9. 完成步骤4后，向每个裂解样品中添加1µl RNase **(R)**，并进行涡旋3秒。在室温下静置2分钟，以去除残留RNA。
10. 向每个样品中添加10µl洗涤溶液 **(CS)**，漩涡3秒。样品会变得混浊。
11. 以最大速度离心2分钟。
12. 将含有DNA的裂解液上清液（最大100µl）转移到制备的柱上，从步骤8开始，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：不要重新拧紧色谱柱螺帽柱。

Note:

- 在加载裂解液上清液期间，不要用移液器枪头尖端接触色谱层！
 - 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 (xg)；如果不是这样的话请尽可能使用下面的公式*来计算每分钟转速，(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。

用于从组织样品中一步纯化基因组DNA

产品编号 (rxn)	010-002-010 (10)	010-002-050 (50)	010-002-250 (250)
试剂盒内容物:	组织裂解缓冲液、TurboLyse T蛋白酶、组织核糖核酸酶A、洗涤溶液T、1x Tris缓冲液、EchoLUTION色谱柱		
相关产品	盖打孔机 050-001-001	组织切割刀 050-002-00x	

快速操作流程（请先阅读协议）

裂解

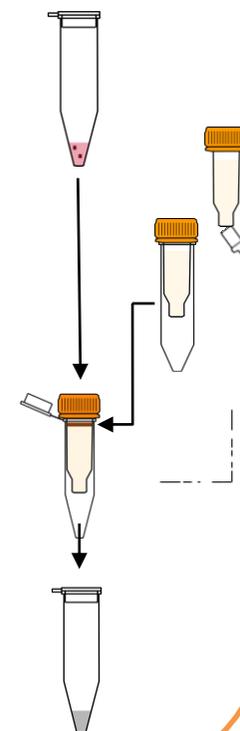
- 将10 mg组织转移到反应管中
- 添加90 µl **(LB)**
- 添加5 µl **(P)**，快速涡旋
- 最大震荡孵育30分钟/60°C，然后10分钟/80°C，
- 添加1 µl **(R)**，快速漩涡震荡并在室温下孵育2分钟
- 添加10 µl **(CS)** 然后快速涡旋
- 以最大速度离心2分钟

色谱柱制备（在60°C和80°C培养期间）

- 短暂涡旋色谱柱，置于2ml试管中静置10分钟
- 用盖打孔机在盖上打孔，以及掰下底部封盖
- 将色谱柱放回2ml试管中
- 以1000 x g*离心1分钟，以洗脱色谱柱缓冲液
- 将色谱柱置于1.5 ml试管中

DNA的纯化

- 通过盖孔垂直缓慢转移裂解液上清液（最大100µl）（扫描二维码观看视频）至色谱柱
- 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



2020/01/23



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

