****

**支原体基因组小提试剂盒简明说明书（GD3211）**

**产品简介**

本试剂盒可快速简便地从支原体中分离纯化得到gDNA。结合BIOMIGA的ezBind膜可逆核酸结合特性以及Mini Column的速度技术，可得到OD260/280值在1.7-1.9的高质量gDNA。纯化后的DNA可用于PCR、Southern Blotting和限制性酶切等应用。

**产品构成**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Catalog#** | **-00** | **-01** | **-02** |
| Preps | 4 | 50 | 250 |
| Mini Columns | 4 | 50 | 250 |
| 2 mL Collection Tubes | 4 | 50 | 250 |
| Buffer LY | 1.2 mL  | 15 mL  | 65 mL  |
| Buffer KB | 2.1 mL  | 26 mL  | 130 mL  |
| DNA Wash Buffer\* | 2 mL  | 15 mL  | 3 x 24 mL  |
| Elution Buffer | 2 mL  | 15 mL  | 60 mL  |
| Proteinase K | 108 μL | 1.3 mL |  5 x 1.3 mL  |
| RNase A (20 mg/mL) | 25 μL | 270 μL | 1.4 mL |
| User Manual | 1 | 1 | 1 |

**要点**

* DNA Wash Buffer：使用前请将8 mL (GD3211-00)或60 mL (GD3211-01)或96 mL (GD3211-02)或96 mL (GD3211-03) 96-100%乙醇加入至每个DNA Wash Buffer瓶内。终浓度为80%。

**产品贮存及稳定性**

本试剂盒自生产之日起可保存12个月。所有试剂及用品可保存于室温（15-25℃）。

**注意事项**

* 低温条件下Buffer LY可能形成沉淀，使用前请预热至37℃溶解。

**实验前需准备的材料**

* 离心机
* 无菌的1.5 mL离心管
* 水浴锅
* 96-100%乙醇
* PBS

**操作步骤**

1. 将样品转移至一个1.5 mL离心管，若样品体积小于250 μL，加入PBS或**Elution Buffer**补足至250 μL。
2. 加入**25** **μL Proteinase K**和**250 μL Buffer LY**，最大速度涡旋混匀10 s。若要求基因组DNA无RNA污染，每个样品加入**5 μL RNase A（20 mg/mL）**。

**注：** Buffer LY可能形成沉淀，使用前请于37℃预热溶解。

1. 50℃孵育10 min，期间涡旋混匀一次。
2. 加入260 μL 无水乙醇，最大速度涡旋混匀10 s。瞬时离心，将液体收集至管底。
3. 将一个**Mini Column**插入**2 mL Collection Tube**，转移样品至**Mini Column**，12,000 rpm离心30 s，弃滤液。
4. 加入**500 μL Buffer KB**，12,000 rpm离心30 s，弃滤液，重复使用**2 mL Collection Tube**。
5. 加入**600 μL DNA Wash Buffer**，12,000 rpm离心30 s，弃滤液。

**注：**DNA Wash Buffer作为浓缩液提供，使用前需用乙醇稀释。

1. 重复步骤7。
2. 打开柱盖，12,000 rpm离心1 min干燥柱子

**注：**开盖离心有助于更好地去除乙醇，洗脱前去除乙醇是非常必要的。

1. 转移**Mini Column**至一个干净的1.5 mL离心管，加入65℃预热的**100 μL Elution Buffer**，室温静置2 min。
2. 13,000 rpm离心1 min。第一次洗脱大约可得到60-70%的DNA。
3. 可选：重复步骤10，使用一个新的1.5 mL离心管，加入另外的**100 μL Elution Buffer**。二次洗脱可得到剩余约20%的DNA。

**DNA质量和浓度的确定**

总DNA产量可以用分光光度计测定，使用去离子水，Tris-HCl，或Elution Buffer作为空白对照。用Elution Buffer稀释DNA，用下方式计算浓度：

浓度=0.05 μg/μL x A260 x（稀释倍数）

DNA的质量可通过测量260 nm和280nm处的值来确定。A260/A280的值在1.7-1.9通常表明DNA的纯度在85-95%。