



血液基因组 DNA 小量提取试剂盒 (Blood Genomic DNA Kit)

目录号: ZP304

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP304-01 (20 次)	ZP304-02 (50 次)	ZP304-03 (100 次)
红细胞裂解液(10×)	10 ml	20 ml	40 ml
缓冲液 A	10 ml	15 ml	30 ml
缓冲液 B	10 ml	15 ml	30 ml
缓冲液 C	15 ml	30 ml	60ml
漂洗液 W2	15 ml	15 ml	2×15 ml
洗脱缓冲液 TE	10 ml	15 ml	15 ml
蛋白酶 K	0.2ml	0.5ml	1 ml
吸附柱	20 个	50 个	100 个
收集管 (2 ml)	20 个	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份	1 份

选配试剂:

RNaseA (10mg/ml) (目录号 : ZS106)

储存条件:

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下可保存 12 个月;更长时间的保存可置于 2-8°C。

产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,提取多种细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

提取得率:

材料	提取量	DNA 得量
哺乳动物全血	100-400 μl	3-10 μg
禽类、两栖类全血	5-20 μl	5-40 μg

产品特点:

简单快速: 一小时内即可获得超纯的基因组 DNA。

超 纯: 获得的 DNA 纯度高,可直接用于 PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

注意事项: 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若缓冲液 A 和缓冲液 B 中有沉淀,可在 65°C 水浴中重新溶解,摇匀后使用。
3. 所有离心步骤均为使用台式离心机,室温下离心。
4. 红细胞裂解液为 10×母液,实验时请用蒸馏水稀释至 1×使用。
5. 漂洗液 W2 在使用前请按瓶上标签提示,加入适当的无水乙醇。

操作步骤：

1. 处理材料：

- a. 本试剂盒每次可以处理哺乳动物 50 μ l-1ml 的新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液。推荐处理血量 100 μ l-300 μ l。

操作过程：在样品中加入 2-3 倍体积 1 \times 红细胞裂解液 (**10 \times 红细胞裂解液需要稀释为 1 \times 使用**)，振荡混匀 1-3 秒。放置 2 分钟或溶液由悬浊变透明深红墨水样，6000rpm (~11,500 \times g) 离心 1 分钟，轻甩倒掉上清液(通常沉淀大约 10-50 μ l)，加 600 μ l 1 \times 红细胞裂解液再次裂解，涡旋振荡 2-5 秒打散细胞沉淀。放置 1-2 分钟，8000rpm (~11,500 \times g) 离心 1 分钟，轻甩去上清；并用卫生纸吸尽管口液体。也可用枪小心吸尽上清。如果吸不干净；剩下液体和沉淀总体积不要超过 50 μ l (最好 20-30 μ l)。

注意：吸附血红素的白细胞沉淀于管底；少量的血红素不影响提取。

- b. 如果处理血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量为 5 - 20 μ l。可加缓冲液 A 补足到 250 μ l，涡旋振荡裂解细胞至无明显细胞团块。(具体参见步骤 2)；之后进入步骤 3。

2. 涡旋振荡 2-5s，使沉淀分散开，以利于裂解细胞。加 230 μ l 缓冲液 A 涡旋振荡裂解细胞。振荡 10 秒-1 分钟，无明显的细胞团块即可；也可以用 1ml 枪吹打裂解混匀；一般情况是越粘稠即核酸越多。

注意：如果需要去除 RNA，可加入 4 μ l RNaseA (10 mg/ml) 溶液 (客户自备，目录号：ZS106)，振荡 15 秒，室温放置 5 分钟。

3. 加入 10 μ l 蛋白酶 K 溶液，涡旋 2-5s 混匀。56 $^{\circ}$ C 放置 15 分钟，其间颠倒混匀 2-3 次。

4. 加入 250 μ l 缓冲液 B，涡旋 5-10s 混匀。

注意：加入缓冲液 B 时可能会产生白色沉淀，但不会影响后续实验。

5. 加入 250 μ l 无水乙醇，涡旋 10-20s 混匀。此时溶液变得透明粘稠，瞬时离心使管盖内壁的水珠回到管底部。

6. 将上一步所得溶液全部加入吸附柱中 (吸附柱放入收集管中)，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

注意：开盖离心有助于减少堵柱。

7. 向吸附柱中加入 500 μ l 缓冲液 C，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

注意：如果血液样品少于 600 μ l 可以不加缓冲液 C，即第 7 步可不做。

8. 向吸附柱中加入 700 μ l 漂洗液 W2 (**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**)，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

9. 向吸附柱中加入 500 μ l 漂洗液 W2，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。然后 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟。将吸附柱置于一个新的 1.5ml 离心管中，室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR 等) 实验。

10. 向吸附膜的中间部位悬空滴加 80-200 μ l 洗脱缓冲液 TE，室温放置 2 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。

注意：建议洗脱缓冲液体积为 100 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟。

注意：洗脱缓冲液 TE 不含有 EDTA；如果下游实验用于对 EDTA 不敏感的实验 (如 PCR)，可以补加终浓度 1mM 的 EDTA；这样使用中即使污染了 DNA 酶也不容易被降解。也可以用分子克隆常用的 TE(pH8.0) 洗脱。