



# 全血基因组 DNA 快速提取试剂盒

## Rapid Blood DNA Kit

### 产品信息：

试剂盒组成	保存	DL101-01	DL101-02
		100 次	200 次
RNaseA (10mg/ml)	室温	300 $\mu$ l $\times$ 2	300 $\mu$ l $\times$ 4
裂解液 RBC	室温	120ml	120ml $\times$ 2
缓冲液 BB	室温	20ml	40ml
结合液 CB	室温	30ml	60ml
抑制物去除液 IR	室温	50ml	100ml
漂洗液 WB	室温	25ml	25ml $\times$ 2
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	1 ml	15ml $\times$ 2
蛋白酶 K (20mg/ml)	-20 $^{\circ}$ C	1ml $\times$ 2	1ml $\times$ 4
吸附柱 AC	室温	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	100 个	200 个

### 保存条件：

本试剂盒在室温 (15-25 $^{\circ}$ C) 储存 12 个月不影响使用效果。RNaseA、蛋白酶 K 可室温运输，建议-20 $^{\circ}$ C长期保存。

### 产品介绍：

独特的结合液/蛋白酶 K 迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，抑制物去除液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

### 产品特点：

简单快速：1 h 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:**

1. 结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀, 可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解, **恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。
3. 不同样品尤其疾病样品中白细胞数量差异可能非常大, 因此产量的个体差异也可能非常大。
4. 开始实验前将需要的水浴先预热到 70℃ 备用。
5. 为了最佳效果, 最好使用新鲜血液标本或者 4℃ 存放少于 3 天的标本, 不要使用反复冻融超过 3 次的标本, 否则会严重降低产量。
6. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA, 不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱, 但应该确保批 pH 大于 7.5, pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20℃。DNA 如果需要长期保存, 可以用 TE 缓冲液洗脱 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0), 但是 EDTA 可能影响下游酶切反应, 使用时可以适当稀释。

**自备试剂:** 无水乙醇、异丙醇

**操作步骤:**

**提示:** 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇, 充分混匀, 加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

1. 处理血液材料 (本产品适用于处理已添加抗凝剂的 100 $\mu$ l-1ml 血液样品):

A. 当血液样品体积小于 200 $\mu$ l 时, 可加缓冲液 BB 补足至 200 $\mu$ l, 再进行下一步实验 (如血液样品体积为 200 $\mu$ l, 可直接进行下一步实验, 不需加入 BB)

B. 当血液样品体积超过 200 $\mu$ l 时, 需用裂解液 RBC 处理, 具体步骤如下:

在样品中加入 1-3 倍体积的裂解液 RBC, 颠倒混匀, 室温放置 10 min, 1,2000rpm 离心 20 sec, 吸去上清, 留下细胞核沉淀 (如果裂解不彻底, 可以重复以上步骤一次), 向离心收集到的细胞核沉淀中加 200 $\mu$ l 缓冲液 BB, 振荡至彻底混匀。

C. 如果处理血样为禽类、鸟类、两栖类活更低级生物的抗凝血液, 其红细胞为有核细胞, 因此处理量 5-20 $\mu$ l, 可加缓冲液 BB 补足 200 $\mu$ l 后进行下面裂解步骤。

**注意:** 如果需要去除 RNA, 可加入 4 $\mu$ l RNaseA (10mg/ml) 溶液, 振荡 15sec, 室温放置 5 min。

2. 加入 20 $\mu$ l 蛋白酶 K (20mg/ml) 溶液, 充分混匀, 再加入 200 $\mu$ l 结合液 CB, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 在 70℃ 放置 10 min, 直到溶液变清亮。
3. 冷却后加入 100 $\mu$ l 异丙醇或 200 $\mu$ l 无水乙醇, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 此时可能会出现絮状沉淀。

4. 将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入一个吸附柱 AC 中，（吸附柱放入收集管中）12,000rpm 离心 30-60 sec，倒掉收集管中的废液。
5. 加入 500 $\mu$ l 抑制物去除液 IR，12,000rpm 离心 30 sec，弃废液。
6. 加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB(请先检查是否已加入无水乙醇!)，12,000rpm 离心 30 sec，弃掉废液。
7. 重复操作步骤 6
8. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000rpm 离心 2 min，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 取出吸附柱 AC，放入一个干净的离心管中，**在吸附膜的中间部位**加 60-100 $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB(洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好)，室温放置 2 min，12,000rpm 离心 2 min。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 AC 中，室温放置 2 min，12,000rpm 离心 2 min。