

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 μ l \times 2	300 μ l \times 4
裂解液 RBC	室温	120ml	120ml \times 2
缓冲液 BB	室温	20 ml	40 ml
结合液 CB	室温	30 ml	60 ml
抑制物去除液 IR	室温	50 ml	100 ml
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前加入 100ml 无水乙醇	25ml \times 2
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml \times 2
蛋白酶 K(20mg/ml)	室温	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 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 在高离子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:

- 1.简单快速:1 h 内即可获得超纯的基因组 DNA。
- 2.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 $^{\circ}$ C 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°C 备用。
- 5.为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者 4°C 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°C。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 μ l-1ml 血液样品）；
 - a.当血液样品体积小于 200 μ l 时，可加缓冲液 BB 补足至 200 μ l，再进行下一步实验（如血液样品体积为 200 μ 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 μ 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 10min，1,2000rpm 离心 20sec，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 μ 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 μ l，可加缓冲液 BB 补足 200 μ l 后进行下面裂解步骤。

注意：如果需要去除 RNA，可加入 4 μ l RNaseA（10mg/ml）溶液，振荡 15sec，

室温放置 5min。

2. 加入 20 μ l 蛋白酶 K (20mg/ml) 溶液，充分混匀，再加入 200 μ l 结合液 CB, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 在 70 $^{\circ}$ C 放置 10min, 直到溶液变清亮。
3. 冷却后加入 200 μ 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) 12,000 rpm 离心 30-60sec, 倒掉收集管中的废液。
5. 加入 500 μ l 抑制物去除液 IR, 12,000 rpm 离心 30sec, 弃废液。
6. 加入 500 μ l 漂洗液 WB (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 12,000 rpm 离心 30sec, 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, 12,000 rpm 离心 2min, 将吸附柱置于室温放置数数分钟, 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 μ 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 2min, 12,000 rpm 离心 2min。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, 12,000 rpm 离心 2 min。

(**注意:** 若用 ddH₂O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内, pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率; 且 DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C, 以防 DNA 降解)