



血液基因组 DNA 中量提取试剂盒(离心柱型)

(Blood Genprep DNA Kit)

目录号: ZP305

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP305-01 (50 次)	DP305-02 (100 次)
细胞裂解液 (10×)	60 ml	120ml
缓冲液 A	30 ml	60ml
缓冲液 B	30 ml	80 ml
缓冲液 C	30 ml	60 ml
漂洗液 W2	15 ml	2×15 ml
洗脱缓冲液 TE	15 ml	30 ml
蛋白酶 K	1ml	2×1ml
吸附柱	50 个	100 个
收集管 (2 ml)	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

选配试剂:

RNaseA (10mg/ml) (目录号: ZS103)

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, 提取血液中的基因组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	1 ml - 3 ml	20-65µg
禽类、两栖类全血	20 µl - 100 µl	10-70 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:

1. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. 若缓冲液 B 中有沉淀, 可在 56°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。

操作步骤：

1. 处理血液材料 (**本产品适用于处理已添加抗凝剂的 1ml-3ml 血液样品**) :
 - a. 血液样品需用红细胞裂解液处理，具体步骤如下：

在样品中加入 1-2.5 倍体积的 **1×红细胞裂解液** (**10×红细胞裂解液需要稀释为 1×使用**)，颠倒混匀，10,000 rpm (~11,500×g) 离心 1 分钟，吸去上清，留下白色的细胞核沉淀 (**如果管底沉淀仍为红色,说明裂解不彻底,可重复以上步骤一次**)；处理完红细胞后，用 20ul 红细胞裂解液 (10×) 吹打重悬白色沉淀。并转移到 **2ml 离心管** 中操作。
 - 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，其红细胞为有核细胞，因此处理量为 20-100μl。可加**缓冲液 A** 补足到 500μl，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. 加 500 μl **缓冲液 A** 涡旋振荡裂解细胞。(振荡 30 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 μl RNaseA (10 mg/ml) 溶液 (客户自备，目录号：ZS103)，振荡 15 秒，室温放置 5 分钟。
3. 加入 20 μl **蛋白酶 K** 溶液，涡旋 2-5s 混匀。56°C 放置 15 分钟，其间颠倒混匀 2-3 次。
4. 加入 500 μl **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 500 μl **无水乙醇**，涡旋 15-30s 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×g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。一次上柱量最多为 750ul，超出的可以分两次上柱。

注意：如果 DNA 的量过多，即样品量过多，可能会比较粘稠而堵柱，此时可以打开吸附柱盖离心 1-2 分钟。如果还是有少量离不下去，则吸弃之。

7. 向吸附柱中加入 500 μl 缓冲液 C，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。
8. 向吸附柱中加入 600 μl 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×g) 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。重复此步骤一次。
9. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 分钟，倒掉废液。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。

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. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 100-200 μl 洗脱缓冲液 TE，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。建议使用 150ul 洗脱。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于 50μl，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 分钟，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 分钟。洗脱液的 pH 对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内(可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。

DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 μg/ml 双链 DNA、40 μg/ml 单链 DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-2.0，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。