



微量样品基因组 DNA 提取试剂盒 (Micro DNA Kit)

目录号: ZP312

试剂盒内容: 选配试剂 RNaseA (10mg/ml) (目录号: ZS103)

试剂盒组成	ZP312-01 (20次)	ZP312-01 (50次)	ZP312-02 (100次)
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	20 ml	40 ml
漂洗液 W2	15 ml	15 ml	2×15 ml
洗脱缓冲液 TE	15 ml	15 ml	15 ml
Acryl Carrier	0.2ml	0.5ml	1ml
蛋白酶 K	0.2ml	0.5ml	1ml
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

储存条件: 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核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统, 样品裂解后, DNA在高盐条件下与硅胶膜结合, 在低盐、高pH值时DNA从硅胶膜上洗脱下来。

本试剂盒用于从小剂量的血液、干血点等微量样品中提取基因组DNA, 所得基因组DNA可直接用作PCR模板、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 或缓冲液 B 中有沉淀, 可在 56°C 水浴中重新溶解。
3. 所有的样品使用前请平衡到室温(15–25°C)。
4. 第一次使用试剂盒时, 请按照试剂瓶上的提示在漂洗液 W2 中添加无水乙醇。
5. 所有离心步骤均使用台式离心机, 室温下离心。

一、从少量血中提取基因组 DNA

操作步骤:

1. 取 10–100 μ l 血液到 1.5 ml 的离心管中。加缓冲液 A 到 100 μ l 终体积。加入 10 μ l 的蛋白酶 K 溶液。
注意: 如果需要去除 RNA, 可加入 5 μ l RNase A (100mg/ml) 溶液(目录号: ZS103), 振荡 15 秒, 室温放置 5 分钟。
2. 加入 100 μ l 的缓冲液 B 和 5 μ l Acryl Carrier, 涡旋振荡 1–3 秒, 混匀即可。简短离心以去除管盖内壁的液滴。56°C 温浴 10 分钟。
注意: 加入缓冲液 B 时可能会产生白色沉淀, 一般 56°C 放置时会消失, 不会影响后续实验。如溶液未变清亮, 说明细胞裂解不彻底, 可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。
3. 加入 100 μ l 乙醇 (96–100%), 如果室温超过 25°C, 请将乙醇置冰上预冷。涡旋振荡 20 秒。简短离心以去除管盖内壁的液滴。将所得溶液都加到一个吸附柱中 (吸附柱放入收集管中), 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
4. 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, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入 600 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, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。重复此步骤一次。

6. 将吸附柱放入收集管中，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。
7. 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 30–50 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。
注意：洗脱缓冲液体积不应少于 30 μl，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次加入吸附柱中，室温放置 2 分钟，12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 分钟。
洗脱液的 pH 值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。

二、从干血点中提取基因组 DNA

操作步骤：

1. 取三片 3×3 mm 的样品到 1.5 ml 的离心管中。加入 180 μl 的缓冲液 A。加入 10 μl 蛋白酶 K 溶液，轻轻颠倒混匀。56°C 孵育 30 分钟。
2. 加入 200 μl 的缓冲液 B 和 5 μl Acryl Carrier，涡旋振荡 1-3 秒，混匀即可。70°C 孵育 10 分钟，简短离心以去除管盖内壁的液滴。
注意：加入缓冲液 B 时可能会产生白色沉淀，一般 70°C 放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。
3. 加入 200 μl 的乙醇（96–100%）。如果室温超过 25°C，请将乙醇置冰上预冷。涡旋振荡 20 秒。简短离心以去除管盖内壁的液滴。
4. 将上一步所得溶液都加到一个吸附柱中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400×g)离心 30 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放回收集管中。
5. 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，将吸附柱放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 700 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，将吸附柱放回收集管中。重复此步骤一次。
7. 将吸附柱放回废液收集管中，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。
8. 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 30–50 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。
注意：洗脱缓冲液体积不应少于 30 μl，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次加入吸附柱中，室温放置 2 分钟，12,000 rpm (~13,400×g)离心 2 分钟。
洗脱液的 pH 值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 左右，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。