

全血基因组 DNA 提取试剂盒说明书

货号: AC11015

规格: 50T/ 100T

保存: RNase A、蛋白酶 K 于-20 °C 保存; 其它试剂室温(15°C-25°C) 干燥保存, 复检期 12 个月, 2°C-8°C 保存时间更长。

试剂盒内容:	50T	100T
RNase A	1mL	1mL×2
蛋白酶 K	1mL	1mL×2
红细胞裂解液	120mL	120mL×2
溶液 A	15mL	25mL
溶液 B	15mL	30mL
漂洗液	15mL	15mL×2
洗脱液	10mL	20mL
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

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, 提取全血基因组 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, 能够高效、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。使用本试剂盒提取的基因组 DNA 可用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

操作步骤 (仅供参考):

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶体上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

- 1、样品的处理(本产品适用于处理新鲜的或已经添加抗凝剂的 0.1mL-1mL 血液样品):
 - a、在血液样品中加入 3 倍体积的红细胞裂解液, 充分颠倒混匀, 室温放置 2-5min, 12000rpm 离心 2min, 小心吸去上清, 沉淀应为白色或淡红色, 如果裂解不彻底, 可重复以上步骤一次。向沉淀中加 200 μ L 溶液 A, 振荡至彻底混匀。
 - b、如果处理的血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级动物的血液, 其红细胞为有核细胞, 因此处理量为 5-20 μ L, 不需要再用红细胞裂解液处理, 直接加 200 μ L 溶液 A, 振荡至彻底混匀。
- 2、向悬浮液中加入 20 μ L 的 RNase A (10mg/mL), 充分颠倒混匀, 室温放置 10min。
- 3、加入 20 μ L-30 μ L 的蛋白酶 K (10mg /mL), 充分颠倒混匀, 60°C 水浴消化 30-60min, 消化期间可颠倒离心管混匀数次, 直至样品消化完全为止。

- 4、加入 100 μ L 的溶液 B，充分颠倒混匀，若出现浑浊，可放至 60 $^{\circ}$ C 水浴 10min。
- 5、加入等体积的无水乙醇，充分颠倒混匀，此时可能会出现絮状沉淀，不影响 DNA 的提取，可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中，室温放置 2min。
- 6、12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 7、向吸附柱中加入 600 μ L 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 8、向吸附柱中加入 600 μ L 漂洗液，12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 9、12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口置于室温或 50 $^{\circ}$ C 温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。
- 10、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 50-200 μ L 经 65 $^{\circ}$ C 水浴预热的洗脱液，室温放置 5min，12000rpm 离心 2min。
- 11、离心所得洗脱液可再加入吸附柱中，12000rpm 离心 2min，即可得到高质量的基因组 DNA。

注意事项:

- 1、本试剂盒置于室温(15 -25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下可保存12个月，更长时间的保存可置于2 -8 $^{\circ}$ C。
- 2、常用的血液抗凝剂有EDTA、ACD和肝素等，需注意的是，如欲制备大分子量血液基因组DNA，可优先考虑使用ACD抗凝。一般不使用肝素抗凝，因为用肝素抗凝的血液提取的基因组DNA进行PCR扩增时，有PCR扩增抑制现象。
- 3、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。
- 4、如果试剂盒中的溶液出现沉淀，可在65 $^{\circ}$ C 水浴中重新溶解后再使用，不影响效果。
- 5、绝大多数哺乳动物全血中的红细胞无核，故在提取基因组DNA时需去除不含DNA的无核红细胞，以免影响白细胞裂解和DNA释放。如果处理的血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级动物的血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量减少为5-20 μ L，不需要再用红细胞裂解液来裂解红细胞。
- 6、洗脱缓冲液的体积最好不少于50 μ L，体积过小会影响回收效率:洗脱液的pH值对洗脱效率也有影响；若需要用水做洗脱液应保证其pH值在8.0左右(可用NaOH将水的pH值调至此范围)，pH 值低于7.0会降低洗脱效率。