

## 血液基因组柱式少量提取试剂盒

项目号: B665530

储存条件: 2-8℃。

产品内容:

Component	B665530 50preps	B665530 200preps
BufferRCL	125mL	2×260mL
BufferGR	15mL	50mL
BufferGL	15mL	50mL
BufferGW1 (concentrate)	13mL	52mL
BufferGW2 (concentrate)	15mL	50mL
BufferGE	15mL	60mL
ProteinaseK	1.25mL	4×1.25mL
SpinColumnsDM withCollectionTubes	50	200

### 产品简介

本试剂盒适用于从新鲜或冷冻的全血(用柠檬酸盐、EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的血液样品)、血浆、血清、血沉棕黄层、淋巴细胞、无细胞体液等样本中提取总 DNA, 包括基因组 DNA, 线粒体 DNA 及病毒 DNA。本品可以处理 0.1-1mL 的全血, 最高得率可达 30 μg, 可纯化获得大小为 100bp 到 50kb 的 DNA, 纯化的 DNA 产量高、质量好, 最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染, 可直接用于 PCR、荧光定量 PCR、酶切和 SouthernBlot 等实验。

**自备试剂:** 无水乙醇。

### 实验前准备及重要注意事项

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. 本试剂盒最多可以提取 0.1-1mL 全血样品或 1×10<sup>7</sup> 个白细胞。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 BufferGW1 和 BufferGW2 中加入无水乙醇。
4. 使用前请检查 BufferGL 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀, 请将 BufferGL 于 56℃ 水浴孵育重新溶解。
5. 试剂盒中的 BufferRCL 浑浊后不能继续使用。

### 操作步骤

1. 样品处理:
  - 1a. 提取 200uL 血液样品时, 向离心管(自备)中加入样本后, 可直接进行下一步实验。

1b. 当血液样本量小于 200  $\mu$ L 时, 加入 BufferGR 补足至 200  $\mu$ L, 再进行下一步实验。

1c. 当血液样本量超过 200  $\mu$ L 时, 加入 1~2.5 倍体积的 BufferRCL, 轻轻涡旋或颠倒混匀, 12,000rpm ( $\sim$ 13,400 $\times$ g) 离心 1 分钟, 小心吸弃上清液, 如果沉淀中还有红色, 可以重复以上步骤一次。然后向沉淀中加入 200  $\mu$ L BufferGR, 震荡至彻底混匀, 再进行下一步实验。

1d. 如果处理血液样本为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血, 其红细胞为有核细胞, 血液样本量为 5-20  $\mu$ L, 可加入 BufferGR, 补足至 200  $\mu$ L 后进行后续实验。

注意: 如果下游试验对 RNA 敏感, 可加入 4  $\mu$ L RNaseA (100mg/mL) 溶液, 震荡 15 秒, 室温放置 5 分钟。RNaseA 本试剂盒并未提供, 如需要可单独向本公司订购, 货号: CW0601S。

2. 向以上溶液中加入 20  $\mu$ L ProteinaseK, 混匀。

3. 加入 200  $\mu$ L BufferGL, 震荡至彻底混匀。

注意: 不要将 ProteinaseK 和 BufferGL 进行预混。

4. 56 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟, 其间颠倒混匀数次。

注意: 孵育 10 分钟 DNA 的产量已经达到最大, 继续延长孵育时间对 DNA 产量和纯度没有影响。

5. 加入 200  $\mu$ L 无水乙醇, 颠倒混匀数次。短暂离心, 使管壁和壁盖上的液体集中到管底。

6. 将步骤 5 所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 (SpinColumnsDM) 中, 若一次不能加完溶液, 可分多次转入。12,000rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 500  $\mu$ L BufferGW1 (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

注意: 如果提取样品是小鼠或猴子等血红素难以除去的种属的血液基因组, 建议重复步骤 7。

8. 向吸附柱中加入 500  $\mu$ L BufferGW2 (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000rpm

离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

注意: 如需进一步提高 DNA 纯度, 可重复步骤 8。

9. 12,000rpm 离心 2 分钟, 倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。

注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。

10. 将吸附柱置于一个新的离心管 (自备) 中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 50-200  $\mu$ L BufferGE 或灭菌水, 室温放置 2-5 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟, 收集 DNA 溶液, -20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

注意: 1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有

很大影响, 若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 (可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围), pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。

2) 如果要提高 DNA 的终浓度, 可以将所得的 DNA 洗脱液重新加至吸附膜上, 室温放置 2-5 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟。

3) 因为保存在水中的 DNA 会受到酸性水解作用的影响, 如需长期保存, 推荐用 BufferGE 洗

脱并于-20℃保存。