

# 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	100 次×2
RNaseA (10mg/ml)	-20℃	300μl×2	300μl×4
裂解液 RBC	室温	120ml	120ml×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	25ml×2
		第一次使用前加入 100ml 无水乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml×2
蛋白酶 K( 20mg/ml)	室温	1ml×2	1ml×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℃) 储存 12 个月不影响使用效果。RNaseA 建议-20℃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℃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℃ 备用。
5. 为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者 4℃ 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 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℃。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 100μl-1ml 血液样品）；
  - a. 当血液样品体积小于 200μl 时，可加缓冲液 BB 补足至 200μl，再进行下一步实验（如血液样品体积为 200μl，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 200μl 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 200μl 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 5-20μl，可加缓冲液 BB 补足 200μl 后进行下面裂解步骤。

**注意：**如果需要去除 RNA，可加入 4μl RNaseA (10mg/ml) 溶液，振荡 15sec，室温放置 5min。

2. 加入 20μl 蛋白酶 K (20mg/ml) 溶液，充分混匀，再加入 200μl 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在 70℃ 放置 10min，直到溶液变清亮。
3. 冷却后加入 200μl 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 500μl 抑制物去除液 IR, 12,000 rpm 离心 30sec，弃废液。
  6. 加入 500μl 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 60-100μl 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70℃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 ddH<sub>2</sub>O 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℃，以防 DNA 降解）

BM191220