

## 全血基因组DNA提取试剂盒（吸附柱法）

产品货号：26238

产品规格：50T/100T

### 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。

### 产品组成：

试剂名称	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

### 操作步骤：

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 $\mu$ 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 $\mu$ L，不需要再用红细胞裂解液处理，直接加 200 $\mu$ L 溶液 A，振荡至彻底混匀。
2. 向悬浮液中加入 20 $\mu$ L 的 RNase A (10mg/mL)，充分颠倒混匀，室温放置 10min。
3. 加 20 $\mu$ L-30 $\mu$ L 的蛋白酶 K( 10mg /mL )，充分颠倒混匀，60 $^{\circ}$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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 $\mu$ 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，



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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 $\mu$ 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 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、两栖类或更低级生物的血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量减少为 5-20 $\mu$ 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 $\mu$ 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。

#### 保存条件:

RNaseA、蛋白酶 K 于-20 $^{\circ}$ C 保存；其它试剂室温(15-25 $^{\circ}$ C) 干燥保存，复检期 12 个月，2-8 $^{\circ}$ C 保存时间更长。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com