

产品简介:

- ※ 快速、方便，高得率、高纯度。一小时内可从 100 μ l—1000 μ l 的血液中快速提取 4—30 μ g 高质量的基因组 DNA 见下表。

材料	提取量	DNA 得量
哺乳动物全血	100 μ l—1ml	3—30 μ g
禽类、两栖类全血	5—20 μ l	5—40 μ g

- ※ 采用进口硅胶膜，吸附量大，产率高，实验结果可重复性好。
- ※ 提取的 DNA 可直接用于 PCR/Real time PCR、限制性酶切、Southern blot、测序、mutant analysis 和 SNP 等下游应用实验。

操作步骤:

1. 试验前准备及注意事项

- 试剂盒在第一次使用前请按试剂瓶标签说明在 **Buffer W1** 和 **Buffer W2** 中加入无水乙醇，并做好标记；溶液使用后，避免长期暴露于空气中，请及时盖紧盖子，密闭保存。
- 若溶液 BL 中有沉淀，可在 56 $^{\circ}$ C 水浴中重新溶解，摇匀后使用
- 使用前，请将水浴锅调整 70 $^{\circ}$ C，并将 Buffer TE 置于 70 $^{\circ}$ C 预热。

2. 处理血液材料（本产品适用于处理已添加抗凝剂的 100 μ l—1ml 血液样品）

当血液样品体积超过 200 μ l 时，在样品中加入 1~2.5 倍体积的细胞裂解液 EL，颠倒混匀，10,000 rpm (~ 11,500 \times g) 离心 1 分钟，吸去上清，留下细胞核沉淀（如果裂解不彻底，可重复以上步骤一次），向离心收集到的细胞核沉淀中加 200 μ l 溶液 NS，振荡至彻底混匀。

注意：当血液样品体积小于 200 μ l 时，可加缓冲液 NS 补足体积至 200 μ l 再进行下一步细胞裂解实验（如血液样品体积为 200 μ l，可直接进行下一步实验，不需加入溶液 NS）。请及时盖紧盖子，密闭保存。

如果处理血样为禽类、鸟类、两栖类或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—20 μ l，可加溶液 NS 补足 200 μ l 后进行下面的细胞裂解步骤。

2. 加入 20 μ l 蛋白酶 K 溶液，混匀。（蛋白酶 K 可根据血量或白细胞量适当增减）

注意：如果需要去除 RNA，可加入 4 μ l RNaseA (100 mg/ml) 溶液（用户自备），振荡 15 秒，室温放置 5 分钟。

- 加 200 μ l 溶液 BL，充分颠倒混匀，56 $^{\circ}$ C 放置 10 分钟，其间颠倒混匀数次，溶液应变清亮（如溶液未彻底变清亮，请延长裂解时间至溶液清亮为止）。

注意：加入溶液 BL 时可能会产生白色沉淀，一般 56 $^{\circ}$ 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 DNA 量少和提取出的 DNA 不纯。当血液体积 \leq 200ul 且没有采用红细胞裂解处理，或是样本储存条件不佳，水浴后颜色可能为深褐色，注意溶液中没有团块等沉淀。

- 加 200 μ l 无水乙醇，充分颠倒混匀，冷却至室温。此时可能会出现絮状沉淀。（涡旋震荡 10s 可以提高收率）
- 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱（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。
- 向吸附柱中加入 700 μ l Buffer W1（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。
- 向吸附柱中加入 700 μ l Buffer 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，将吸附柱放入收集管中。
- 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer W2，12,000 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，12,000 rpm (~ 13,400 \times 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。
- 将吸附柱转入 1.5ml 离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加 50—200 μ l Buffer TE，室温放置 2—5 分钟（70 $^{\circ}$ C 保温得率更高），12,000 rpm (~ 13,400 \times g) 离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。
注意：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 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解。

DNA 定量及纯度检测

OD260 值为 1, 相当于 50ug/ml 的双链 DNA。也可以通过 DNA Marker 通过琼脂糖凝胶电泳半定量。

OD260/ OD280 比值一般为 1.7-1.8, 如果洗脱时不使用缓冲液, 而使用去离子水, 由于受 PH 值和离子浓度的影响, 比值会偏低。

常见问题

问 题	可能原因	解决方法
未得到 DNA	漂洗缓冲液和溶液 PP 使用前未加入无水乙醇	请按试剂瓶标签说明在 Buffer W1 和 Buffer W2 中加入无水乙醇, 并做好标记。
DNA 产量低	裂解不完全	加入蛋白酶 K 和溶液 BL 后请立即充分混匀。 确保初始血液用量 ≤ 1000 μl。 确保操作中加入蛋白酶 K。 延长裂解时间。
	血液样品中白细胞浓度较低	将血液样品 4,000rpm 室温离心 10 分钟。离心后样品将分为三层, 直接吸取 20-50 μl 中间层作为初始材料进行操作。
	初始材料质量不高	使用新鲜或冷冻的血液样品。
	蛋白酶 K 活性降低	蛋白酶 K 每次使用完毕立即冻存于 -20°C。
	洗脱缓冲液使用不当	使用 70°C 预热的洗脱缓冲液。
离心时吸附柱堵塞	血液样品中白细胞浓度大于 1×10^7 个/200 μl	减小血液样品的初始用量。
	样品反复冻融过程中, 血浆中产生冷凝蛋白	将采集样品分成小份储存, 尽量不使用反复冻融的血液作为初始材料。

PK-BDC**血液基因组 DNA 提取试剂盒**

(蛋白酶 K、离心柱型)

试剂盒内容	50 次 Cat: GM110	250 次 Cat: GM120
溶液 EL Solution EL	140 ml	140 ml × 5
溶液 BL Solution BL	15ml	15ml × 5
溶液 W1 Buffer W1	20 ml	20ml × 5
溶液 W2 Buffer W2	15 ml	15ml × 5
溶液 TE Buffer TE	10 ml	10ml × 5
溶液 NS SolutionNS	15 ml	15 ml × 5
蛋白酶 K (20mg/ml)	1ml	1ml × 5
吸附柱 Spin Column	50	250
收集管 Collection Tube	50	250
说明书 Specification	1	1

贮存条件:

蛋白酶 K -20°C 保存, 有效期一年。其他室温保存。