

血基因组 DNA 小量提取试剂盒

制品说明:

全血基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱型)可以从新鲜或加入抗凝剂的全血中分离纯化高质量的基因组 DNA。本试剂盒采用高效细胞裂解液,结合改良设计的 DNA 制备柱,纯化得到高纯度基因组 DNA,适用于 PCR、Southern 分析、RAPD、AFLP 等多种分子生物学实验。本试剂盒可以从 200 μ l 的全血中抽提得到 10-15 μ g 的全基因组 DNA。

产品组成:

Cat.	EK01704	EK01705	EK01725
制备次数	4 Tests	50 Tests	250 Tests
gDNA column	4	50	250
1.5ml collection tube	4	50	250
2ml collection tube	4	50	250
Lysis buffer A3	3 ml	30 ml	150 ml
Lysis buffer B3	1.5 ml	6 ml	30 ml
Wash buffer A2	2.4 ml	24 ml	120 ml
Wash buffer B	2.4 ml	24 ml	72 ml \times 2
Elution buffer A	1.2 ml	11 ml	60 ml

注意事项与实验准备:

- 第一次使用时,在 Wash buffer A2 和 Wash buffer B 中按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
- 准备无 DNA 酶和 RNA 酶污染的吸头、1.5ml 离心管。
- 本试剂盒适用于使用 EDTA、ACD 或肝素抗凝管收集的全血。样品可以是新鲜的或冷冻保存的。新的血样必须保存在 4 $^{\circ}$ C,并且是 7 天内收集的血样。冷冻保存血样在使用前需要重新融化。
- 如果从鸟类、两栖类或更低级的动物中提取基因组 DNA,因其血液中红细胞有核,血液用量勿超过 10 μ l,并用 PBS 溶液将血样体积稀释到 250 μ l 后再按正常步骤操作。
- gDNA column 至多结合 25 μ g 的 DNA。若需更多的基因组 DNA,可用 0.5ml 血来提取基因组 DNA。将 0.5ml 血样分成两管,每管 250 μ l,按步骤 1 至 4 制备提取。将步骤 4 所得到的上清混合,加到同一个 DNA column 中结合 DNA,最后用 100-200 μ l 的 Elution buffer A 洗脱 DNA。
- 操作时要戴乳胶手套和眼镜,避免沾染皮肤、眼睛和衣服,谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛时,要立即用大量清水和生理盐水冲洗,必要时寻求医疗咨询。
- 为了保持基因组 DNA 的性能的完整性以及 PCR 扩增的特异性,纯化的 DNA 应用含有 0.1mM EDTA 的低盐浓度的 Tris 缓冲液洗脱和贮存。

操作步骤:

- 将 500 μ l Lysis buffer A3 加入到 1.5 ml 离心管中。
- 将 200-250 μ l 抗凝全血加入到 Lysis buffer A3 中,用移液器来回吹吸几次,以彻底溶解残留在吸头上的血液,旋涡振荡 10 s。

注:必须充分混合或旋涡振荡以确保完全释放基因组 DNA。

注:若从凝固的血或干粉中提取基因组 DNA,在研钵中收集凝固的血或干粉,加入 200 μ l 含 20 mM Tris, 10 mM EDTA, (pH 8.5)的缓冲液,快速研磨 30s。加 500 μ l Lysis buffer A3,研磨充分后收集溶解产物到 1.5 ml 离心管中,50 $^{\circ}$ C 加热 1 min。旋涡振荡溶解可能存在的血块,在冰浴中冷却后进入步骤 3 的操作。

- 加 100 μ l Lysis buffer B3,旋涡振荡 10s。
- 12000rpm 离心 10 min。

5. 将 gDNA column 置于 2ml collection tube 中,将步骤 4 中的上清液加入到 gDNA column 中,12000rpm 离心 1min。

注:如在制备管中仍残留溶液,可以适当升高离心速度,再离心一次,使所有溶液过滤到 2 ml 离心管中。

6. 弃滤液,将制备管置回到原 2ml collection tube 中,加入 700 μ l Wash buffer A2,室温放置 2min,12000rpm 离心 30s。

注:确认在 Wash buffer A2 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。

注:如在制备管中仍残留溶液,适当升高离心速度,再离心一次,使所有溶液过滤到 2 ml collection tube 中。

7. 弃滤液,将 gDNA column 置回到原 2ml collection tube 中,加入 800 μ l Wash buffer B,12000rpm 离心 1min。

注:确认在 Wash buffer B 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。

8. (可选方案)将 gDNA column 置回到原 2ml collection tube 中,加入 500 μ l Wash buffer B 到 gDNA column 中,12000rpm 离心 1min。

9. 将弃滤液,将 gDNA column 置回原 2ml collection tube,12000rpm 离心 1min。

10. 将 gDNA column 置于另一洁净的 1.5ml collection tube 中,在 column 膜中央加入 80-200 μ l Elution buffer A,室温静置 1min。12000rpm 离心 1min 洗脱 DNA。

注:将 Elution buffer A 预热到 65 $^{\circ}$ C 有利于提高 DNA 的洗脱效率。