



柱式法血液基因组 DNA 提取试剂盒 说明书

货 号:

TRS0726-050

TRS0726-200



一、试剂盒简介

柱式法血液基因组 DNA 提取试剂盒运用可特异性结合 DNA 的离心吸附柱以及独特的缓冲液系统，实现从血液中高效提取基因组 DNA。离心吸附柱内的硅基质材料对 DNA 具有高效吸附能力，能够有效去除杂质蛋白以及细胞中的其他有机化合物，提取基因组 DNA 片段大、纯度高、质量稳定可靠。

使用本试剂盒纯化后的 DNA，适用于酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等常规实验，同时也满足芯片杂交、高通量测序等对 DNA 质量要求较高的实验。

二、提取得率

材料	提取量	DNA 得量
哺乳动物全血	100-500 μ L	3-10 μ g
	500-1000 μ L	10-30 μ g
禽类、两栖类全血	5-20 μ L	5-40 μ g

三、试剂盒规格及组分

组分名称	TRS0728-050	TRS0728-200
细胞裂解液 L	60 ml	250 ml
缓冲液 S	15ml	50ml
缓冲液 PB	15ml	50ml
结合液 BD	20 ml	80 ml
蛋白漂洗液 D	10 mL	40 mL
漂洗液 W	12 mL	48 mL
洗脱液	15ml	60 ml
Proteinase K	1 ml	4X1ml
吸附柱 C	50 个	200 个
收集管 (2ml)	50 个	200 个

四、保存与运输条件

保存条件：试剂盒所有组分应在室温 15~30℃的干燥环境下储存，保质期为 12 个月。若试剂盒中的溶液出现沉淀，使用前将其置于 37℃水浴中预热 10 分钟，待沉淀完全溶解后，充分摇匀即可使用，会影响实验效果。

运输条件：试剂盒常温运输。

五、注意事项

1. **首次使用准备：**首次开启试剂盒时，需依据试剂瓶标签的指示，在蛋白漂洗液 D 和漂洗液 W 中准确加入无水乙醇。
2. **样本处理：**样本应避免反复冻融，反复冻融可能会导致 DNA 片段断裂变小，降低 DNA 的提取量，影响实验结果。
3. **缓冲液处理：**若缓冲液 A 或裂解液 B 中出现沉淀，可将其放入 37°C 水浴中，待沉淀完全溶解后，充分振荡摇匀再使用，以保证缓冲液的均一性和有效性。
4. **离心操作：**整个实验过程中的所有离心步骤，均需使用台式离心机，并在室温条件下进行离心，严格按照规定的转速和时间操作，确保实验的准确性和重复性。

六、操作步骤

1. 处理血液样品：

- a) **200 μ l 血液样品：**若提取 200 μ l 血液样品，可直接进入下一步实验。
- b) **小于 200 μ l 血液样品：**提取小于 200 μ l 的血液样品时，需用缓冲液 S 将样品体积补足至 200 μ l，然后再进行后续步骤。
 **注意：**以上两步适用于大部分 100 - 200 μ l 的血液样品，有些样品由于蛋白、糖类、脂类含量较高，或因样本储存条件不理想，会导致 OD260/OD230 比值偏低。若要提高该比值，可在样品中加入 1 - 2.5 倍血液样品体积的细胞裂解液 L 进行处理，具体操作同下一步。
- c) **大于 200 μ l 血液样品：**提取大于 200 μ l 的血液样品时，需用细胞裂解液 L 处理。具体操作如下：在样品中加入 1 - 2.5 倍血液样品体积的细胞裂解液 L，颠倒混匀后，以 10,000 rpm (约 11,500 $\times$ g) 的转速离心 1 分钟，吸去上清液，留下细胞核沉淀。若裂解不彻底，可再次加入 1 - 2.5 倍血液样品体积的细胞裂解液 L 重复裂解。之后，向细胞核沉淀中加入 200 μ l 缓冲液 S，振荡使其彻底混匀，再进行下一步。
- d) **特殊生物血液样品：**当处理的血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液时，因其红细胞为有核细胞，处理量应为 5 - 20 μ l。需用缓冲液 S 将体积补足至 200 μ l，然后进行后续实验。
 **注：**若实验需要去除 RNA，可在上述悬浮液中加入 5 μ l RNA 酶 A (10 mg/mL) 溶液 (客户自备)。加入后，迅速振荡 15 秒，使溶液充分混合，然后在室温下放置 5 分钟，以实现 RNA 的有效去除。

2. 裂解反应：

向上述处理获得的 200 μ l 样品中加入 200 μ l 缓冲液 PB 和 20 μ l Proteinase K 的预混溶液，充分颠倒混匀后，置于 56°C 环境中放置 10 分钟。在这期间，需多次颠倒混匀，直至溶液变清亮。若溶液未彻底变清亮，可适当延长裂解时间。加入缓冲液 PB 时，溶液中可能会产生白色沉淀，一般在 37°C 放置时沉淀会消失，不影响后续实验。若溶液未变清亮，表明细胞裂解不彻底，可能导致提取的 DNA 量少且不纯。当血液体积 $\geq$ 200 μ l 且未进行红细胞裂解处理，或样本储存条件不佳时，水浴后的溶液颜色可能呈深褐色，此时需注意溶液中不应有团块等沉淀。若血液样品经过细胞裂解液 L 处理，大多数情况下，加入缓冲液 PB 充分颠倒混匀后，室温放置 5 分钟 (期间颠倒混匀 1 - 2

次)即可得到高质量的基因组 DNA。

3. 添加结合液 BD:

室温放置 2-5 分钟后,向样品中加入 350 μ l 结合液 BD,充分颠倒混匀,此时溶液中可能会出现絮状沉淀。

4. 吸附柱吸附:

将上一步所得的溶液及絮状沉淀全部转移至吸附柱 C 中(确保吸附柱 C 已放入收集管),以 12,000 rpm (约 13,400 $\times$ g) 的转速离心 30 秒,倒掉收集管中的废液,再将吸附柱 C 放回收集管。

5. 蛋白漂洗液 D 洗涤:

向吸附柱 C 中加入 500 μ l 蛋白漂洗液 D(使用前需检查是否已加入无水乙醇),以 12,000 rpm (约 13,400 $\times$ g) 的转速离心 30 秒,倒掉收集管中的废液,然后将吸附柱 C 放回收集管。

6. 漂洗液 W 洗涤:

向吸附柱 C 中加入 600 μ l 漂洗液 W(使用前需检查是否已加入无水乙醇),以 12,000 rpm (约 13,400 $\times$ g) 的转速离心 30 秒,倒掉收集管中的废液,将吸附柱 C 放回收集管。**重复本步骤一次。**

7. 干燥吸附柱:

以 12,000 rpm (约 13,400 $\times$ g) 的转速离心 2 分钟,倒掉废液。将吸附柱 C 置于室温下放置 2 分钟,使吸附材料中残余的漂洗液彻底晾干。这一步骤的目的是去除吸附柱中残余的漂洗液,因为漂洗液中的乙醇残留会对后续的酶反应(如酶切、PCR 等)产生影响。

8. DNA 洗脱:

将吸附柱 C 转移至新离心管中,向吸附膜中间位置悬空滴加 50 - 200 μ l 洗脱液,室温放置 2 分钟,然后以 12,000 rpm (约 13,400 $\times$ g) 的转速离心 2 分钟,将溶液收集到离心管中。

 **注:**洗脱缓冲液的体积不应少于 50 μ l,否则会影响回收效率。为提高基因组 DNA 的得率,可将离心得到的溶液再次加入吸附柱 C 中,室温放置 2 分钟,再以 12,000 rpm (约 13,400 $\times$ g) 的转速离心 2 分钟。洗脱液的 pH 值对洗脱效率影响较大,若使用 ddH₂O 作为洗脱液,应确保其 pH 值在 7.0-8.5 范围内,pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。此外,DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C 的环境中,以防止 DNA 降解。

七、免责声明

试剂盒仅供研究使用,不得用于临床实验或人体实验,否则所产生的一切后果,由实验者承担,本公司概不负责。严格按照说明书操作,实验者违反说明书操作,后果由实验者承担。