

版本号: DP121221

TIANamp Blood DNA Kit

血液基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP318

产品内容

产品组成	DP318-02 (50 preps)	DP318-03 (200 preps)
细胞裂解液CL (Buffer CL)	60 ml	250 ml
缓冲液GS (Buffer GS)	15 ml	50 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	15 ml	50 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml	52 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml	60 ml
Proteinase K	1 ml	4 × 1 ml
吸附柱CB3 (Spin Columns CB3)	50个	200个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个
1.5 ml离心管 (Centrifuge Tubes 1.5 ml)	50个	200个

选配试剂

RNase A (100 mg/ml) (目录号: RT405-12)

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8°C。2-8°C保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

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，提取血液中的基因组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，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。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

提取得率

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

产品特点:

简单快速: 1 h内即可获得超纯的基因组DNA。

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 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小、提取量下降。
 2. 若缓冲液GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，摇匀后使用。
 3. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
-

操作步骤

使用前先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 处理血液材料（本产品适用于处理已添加抗凝剂的100 μ l-1 ml血液样品）：
 - a. 当血液样品体积小于200 μ l时，可加缓冲液GS补足体积至200 μ l，再进行下一步实验（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GS）。
 - b. 当血液样品体积超过200 μ l时，需用细胞裂解液CL处理，具体步骤如下：

在样品中加入1-2.5倍体积的细胞裂解液CL，颠倒混匀，10,000 rpm(\sim 11,500 \times g)离心1 min，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缓冲液GS，振荡至彻底混匀。
 - c. 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，可加缓冲液GS补足200 μ l后进行下面的裂解步骤。

注意：如果需要去除RNA，可加入4 μ l RNase A（100 mg/ml）溶液（客户自备，目录号：RT405-12），振荡15 sec，室温放置5 min。

2. 加入20 μ l Proteinase K溶液，混匀。
3. 加200 μ l缓冲液GB，充分颠倒混匀，56 $^{\circ}$ C放置10 min，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：加入缓冲液GB时可能会产生白色沉淀，一般37 $^{\circ}$ 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，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。当血液体积 \leq 200 μ l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。

4. 加200 μ l无水乙醇，充分颠倒混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
 5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CB3中（吸附柱CB3放入收集管中），12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
-

-
6. 向吸附柱CB3中加入500 μl 缓冲液GD (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 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
 7. 向吸附柱CB3中加入600 μl 漂洗液PW (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 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
 8. 重复操作步骤7。
 9. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CB3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。

10. 将吸附柱CB3转入1.5 ml离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加50-200 μl 洗脱缓冲液TB，室温放置2-5 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于50 μl ，体积过小影响回收效率。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CB3中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。洗脱液的pH对于洗脱效率有很大影响。若用ddH₂O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 $^{\circ}\text{C}$ ，以防DNA降解。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。
