



# 血液基因组 DNA 大量提取试剂盒 (Blood Genomic DNA HighPure Kit)

目录号: ZP306

## 试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP306-01 (10次)	ZP306-02 (20次)
红细胞裂解液(10×)	50ml	90 ml
缓冲液 A	30ml	60 ml
缓冲液 B	30ml	60 ml
缓冲液 C	50ml	100 ml
漂洗液 W2	30 ml	2×30ml
洗脱缓冲液 TE	15ml	30 ml
蛋白酶 K	0.5ml	0.8ml
吸附柱	10 个	20 个
收集管 (50ml)	10 个	20 个
说明书	1 份	1 份

## 选配试剂:

RNaseA (100mg/ml) (目录号: ZS103)

## 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。

## 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,可有效地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	5 ml-15ml	120-360µg
禽类、两栖类全血	200 µl-1ml	180-500 µg

## 产品特点:

**简单快速:**一小时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:

1. 实验前使用平衡液处理吸附柱,可以最大限度激活硅基质膜,提高得率。用平衡液处理过的柱子最好立即使用,放置时间过长会影响效果。
2. 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
3. 若缓冲液 B 中有沉淀,可在 65°C 水浴中重新溶解,摇匀后使用。
4. 所有离心步骤均为使用台式离心机,室温下离心。

## 操作步骤：

### 1. 处理材料：

- a. 本试剂盒每次可以处理哺乳动物 **5ml-15ml** 的新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液。

操作过程：在样品中加入 2-3 倍体积 **1×红细胞裂解液**（**10×红细胞裂解液需要稀释为 1×使用**），振荡混匀 10-30 秒。10000rpm (~11,500×g) 离心 1 分钟，小心地从沉淀的另一侧吸去上清。（如裂解不彻底可以重复本步骤一次，一般 200μl 以下裂解一次即可。）利用细菌处于湿润状态，在涡旋振荡器上振荡 5s 分散细胞。

**注意：吸附血红素的白细胞沉淀于管；少量的血红素不影响提取。**

加 3ml **缓冲液 A** 涡旋振荡重悬细胞。（振荡 30 秒--1 分钟。）

- b. 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，因此处理量为 200 μl-1ml。可加**缓冲液 A** 补足到 2ml 颠倒混匀后进行下面的裂解步骤。

**注意：如果需要去除 RNA，可加入 4 μl **RNaseA (100 mg/ml)** 溶液（客户自备，目录号：ZS103），振荡 15 秒，室温放置 5 分钟。**

2. 加入 40 μl **蛋白酶 K** 溶液，混匀。56°C 放置 10 分钟，其间颠倒混匀 2-3 次。

3. 加入 3ml **缓冲液 B**，颠倒混匀。

**注意：加入缓冲液 B 时可能会产生白色沉淀，但不会影响后续实验。**

4. 加入 3ml **无水乙醇**，颠倒混匀，此时溶液变得透明粘稠，瞬时离心使管盖内壁的水珠回到管底部。

5. 将上一步所得溶液全部加入**吸附柱**中（吸附柱放入收集管中），10,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 5ml **缓冲液 C**，10,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

7. 向**吸附柱**中加入 6ml **漂洗液 W2**（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），10,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

8. 向**吸附柱**中加入 3ml **漂洗液 W2**，10,000 rpm (~13,400×g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。然后 10,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 分钟。将吸附柱置于一个新的 50ml 离心管中，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。**

9. 向吸附膜的中间部位悬空滴加 1-1.5ml **洗脱缓冲液 TE**，室温放置 2-5 分钟，10,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。

**注意：建议洗脱缓冲液体积为 100 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中，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400×g) 离心 2 分钟。**

**洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。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°C，以防 DNA 降解。**