

离心柱法小量血液基因组 DNA 提取试剂盒 A

【产品介绍】

本试剂盒通过特异结合液配合蛋白酶 K 处理 10 μ L-300 μ L 新鲜、冷冻或加入抗凝剂血液后，使其中的血液基因组 DNA 特异吸附于硅胶膜上，洗涤除杂后洗脱得到纯净的 DNA。所得基因组 DNA 可用于酶切、PCR、测序、文库构建等下游分子生物学实验。

【特点】

- 无需裂解红细胞，结合步骤无需添加乙醇。
- 有效去除蛋白质、盐类、脂类等杂质，所得纯化产物纯度高，有效地保持基因组 DNA 的完整性。

【试剂盒组成】

组分	目录号 CP-004-0 (50 次)	目录号 CP-004-1 (50 次)
结合液 CBB-A	30 mL	30 mL
去蛋白液 CCB	9 mL	9 mL
洗涤液 CWB	12 mL	12 mL
洗脱液 EB	10 mL	10 mL
蛋白酶 K (20 mg/mL)	1.1 mL	1.1 mL
RNase A (10 mg/mL)	/	550 μ L
离心柱 (含收集管)	50 个	50 个

【保存条件】

蛋白酶 K 和 RNase A 保存于-20 $^{\circ}$ C，试剂盒其它成分置于常温干燥处保存。

【操作步骤】

使用前添加 21 mL 无水乙醇到去蛋白液 CCB；添加 48 mL 无水乙醇到洗涤液 CWB，并做好标记。

所有离心均在室温下进行。

1. 在干净的 1.5 mL 离心管中加入 10 μ L-300 μ L 抗凝血（血液不足 200 μ L 的建议加生理盐水或 EB 补足 200 μ L）。（如需去除 RNA，可在样品中加入 10 μ L RNase A，室温处理 2 min）。
2. 加入 20 μ L 蛋白酶 K 以及 500 μ L 结合液 CBB-A 于样品中，涡旋 15 s 充分混匀样品，56 $^{\circ}$ C 水浴或金属浴加热 10 min，期间混匀数次加速裂解。
3. 短暂离心，将所有溶液加入离心柱中，12,000 \times g 离心 1 min，弃流出液（如溶液体积大于 700 μ L，建议分为 2 次上柱离心）。
4. 加入 500 μ L 去蛋白液 CCB（使用前确定已加入无水乙醇），12,000 \times g 离心 30 s，弃流出液。

-
5. 加入 500 μL 洗涤液 CWB (使用前确定已加入无水乙醇), $12,000\times\text{g}$ 离心 30 s, 弃流出液。
 6. 重复步骤 5 一次。
 7. 把离心柱放回收集管中, 将空柱子于 $15,000\times\text{g}$ 离心 2 min 以便彻底去除残留的 CWB。
 8. 将离心柱置于一干净的离心管中, 在超净台中开盖风干柱膜 3-5 min (CWB 中的乙醇残留可能抑制下游反应)。
 9. 在离心柱膜中央加入 50-200 μL 洗脱液 EB, 静置 1 min (如需提高洗脱效率, 可提前将 EB 置于 60-70 °C 水浴或金属浴中预热)。
 10. $12,000\times\text{g}$ 离心 1 min, 洗脱 DNA, 所得 DNA 置于-20 °C 中长期保存。

【使用注意】

- 为避免产物污染或降解, 建议使用干净、无 DNase 污染的器械或耗材。
- 溶液使用前尽量充分混匀, 同时注意避免溶液间交叉污染。
- 如提取细胞为无核细胞, 建议样本用量为 10 μL -300 μL ; 提取细胞为有核细胞 (禽类和两栖类动物), 建议样本用量不超过 20 μL 。
- 样品用量不宜过多, 以免影响提取效果。
- 为保证所提取 DNA 的质量, 使用新鲜的材料, 避免反复冻融; DNA 的质量取决于材料的种类, 保存的时间等。
- 冻存或 4 °C 冷藏超过 1 个月的抗凝血提取时可不加 RNase A 去除 RNA。