

iPure 全血 gDNA 提取试剂盒

(离心柱型)

产品编号	规格
K313-T	10 次
K313-S	100 次
K313-M	200 次

产品简介

本试剂盒适用于从新鲜或冷冻的全血（用柠檬酸盐，EDTA 或肝素等抗凝剂处理过的血液样品）、血浆、血清、血沉棕黄层，淋巴细胞，无细胞体液等样本中提取总 DNA，包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及病毒 DNA。本品可处理 0.1-1ml 的全血，最高得率可达 30 μ g，可纯化获得大小为 100bp 到 50kb 的 DNA，纯化的 DNA 产量高，质量好，最高限度取出除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染，可直接用于 PCR、荧光定量 PCR、酶切和 Southern Blot 等实验。

一、试剂盒组成、储存条件

试剂盒组成	保存	K313-T	K313-S	K313-M
裂解液 (Buffer ABL)	室温	5mL/瓶×1 瓶	60mL/瓶×1 瓶	120 mL /瓶×1 瓶
蛋白酶 K	-20°C	300µl/瓶×1 瓶	3mL /瓶×1 瓶	5mL /瓶×1 瓶
洗液 1(wash1)	室温	5mL/瓶×1 瓶	36 mL/瓶×1 瓶	72 mL/瓶×1 瓶
洗液 2 (wash2)	室温	5mL/瓶×1 瓶	18 mL/瓶×1 瓶	36mL/瓶×1 瓶
Elution Buffer	室温	1mL/瓶×1 瓶	5mL /瓶×1 瓶	10mL /瓶×1 瓶
吸附柱 C1	室温	10 个	100 个	200 个
2mL 收集管	室温	10 个	100 个	200 个
说明书	室温	1 份	1 份	1 份

本试剂盒室温下保存 12 个月不影响使用效果。低温条件下保存时，若裂解液 (Buffer ABL) 产生沉淀，请先将裂解液 (Buffer ABL) 室温 (20-30°C) 条件下放置一段时间，必要时可放 37°C 水浴中温浴 10 min，以溶解沉淀。

二、实验前准备

- 56°C 水浴锅、离心机
- 无水乙醇、异丙醇、Rnase A (另购：货号 F801-s)
- 使用前，请按下表准确加入 98-100% 的乙醇。

	10T	100T	200T
洗液 1 (wash1)	6ml	36ml	72ml
乙醇	4ml	24ml	48ml

	10T	100T	200T
洗液 2 (wash2)	6ml	18ml	36ml
乙醇	24ml	42ml	84ml

三、操作步骤 A (离心法)

使用前请先在洗液1 (wash1) 和洗液2 (wash2) 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 样品处理:

- a. 提取 200 μ l 血液样品时, 向离心管 (自备) 中加入样本后, 可直接进行下一步实验。
- b. 当血液样本量小于 200 μ l 时, 加入 **Elution buffer** 补足至 200 μ l, 再进行下一步实验。
- c. 如果处理血液样本为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血, 其红细胞为有核细胞, 血液样本量为 5-20 μ l, 可加入 **Elution buffer**, 补足至 200 μ l 后进行后续实验。

注意: 如果下游试验对 RNA 敏感, 可加入 40 μ l RNase A (10mg/ml) 溶液, 震荡 15 秒, 室温放置 5 分钟。RNase A 本试剂盒并未提供, 如需要可单独向本公司订购 (货号: F801S)。

2. 向以上溶液中加入 20 μ l 蛋白酶 K, 混匀。

3. 加入 200 μ l Buffer ABL, 震荡至彻底混匀。

注意: 不要将蛋白酶 K 和 Buffer ABL 进行预混。

4. 56°C 孵育 10 分钟, 其间颠倒混匀数次。

注意: 孵育 10 分钟 DNA 的产量已经达到最大, 继续延长孵育时间对 DNA 产量和纯度没有影响。

5. 加入 200 μ l 无水乙醇, 颠倒混匀数次并静置 1 分钟。短暂离心, 使管壁和壁盖上的液体集中到管底。

6. 将步骤 5 所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱 C1 中, 若一次不能加完溶液, 可分多次转入。12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 500 μ l 洗液 1 (wash1) (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

注意: 如果提取样品是小鼠或猴子等血红素难以除去的种属的血液基因组, 建议重复步骤 7。

8. 向吸附柱中加入 500 μ l 洗液 2 (wash2) (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

注意: 如需进一步提高 DNA 纯度, 可重复步骤 8。

9. 12,000 rpm 离心 2 分钟, 倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。

注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。

10. 将吸附柱置于一个新的离心管 (自备) 中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 100-200 μ l **Elution buffer** 或灭菌水, 室温放置 2-5 分钟, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 收集 DNA 溶液, -20°C 保存 DNA。

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，而且应当将洗脱液放置于65°C的水浴锅中加热后使用，会提高洗脱效率。洗脱液的pH值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°C，以防DNA降解。为增加基因组DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入离心柱中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。

五、操作步骤 B (负压法)

步骤 1-4 同离心法。

5. 将离心柱连到负压装置（如真空抽滤盒）上，将第5步获得的溶液转移到离心柱中，开启并调节负压至800mba，缓慢吸走液体。
6. 向离心柱依次加入**500 μl 洗液1(Wash 1)**、**500 μl 洗液2(Wash 2)**，使用负压装置使得液体通过离心柱。
7. 干抽2min，使得离心柱上的乙醇挥发完全，然后关掉负压装置；
8. 将离心柱放置到新的1.5 mL收集管上，向离心柱中央加入100~200 μl 的Elution Buffer，盖好盖子，室温放置3 min。
9. 12000 rpm离心2 min，将所得的核酸放置-20°C保存或立即使用。