

## 全血基因组DNA快速提取试剂盒

**KD308 50次**

### 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次
裂解液 LRS	室温	16 ml
结合液 CB	室温	16ml
去蛋白液 WA	室温	12ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
漂洗液 WB	室温	10 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱液 EB	室温	12 ml
吸附柱 AC 和收集管 (2ml)	室温	50 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

### 储存事项:

1. 结合液 CB 和去蛋白液 WA 低温时可能出现沉淀, 可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解, 恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

### 产品介绍:

本产品适合从抗凝全血、唾液、培养细胞、蛋白酶 K 消化产物等样本分离纯化 DNA, 裂解液 LRS 溶解全血后, 经结合液 CB 沉淀去除血红蛋白。离心获得的上清中的基因组 DNA 可结合到纯化柱上, 经去蛋白液 WA 和漂洗液 WB 洗涤去除残留在膜上的蛋白与 PCR 抑制物后, 基因组 DNA 用洗脱液 TE 洗脱, 可立即用于各种分子生物学实验。

### 产品特点:

1. 不使用蛋白酶消化，操作简单，方便。
2. 多次柱漂洗确保高纯度， $OD_{260}/OD_{280}$  典型的比值达 1.7 ~ 1.9，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应。

## 注意事项

- ⇒ 第一次使用前请先在去蛋白液 WA 和漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀。
1. 本产品不使用蛋白酶K消化蛋白，因此在加入Buffer L1后必须剧烈震荡混匀（旋涡振荡30秒）；如果样本中DNA含量太高，比如鸟类、鱼类等动物的血液被溶解后可能会成为粘稠状，则必须经过吸头多次吸注，其目的是为了更充分地促使DNA与蛋白质分离。
  2. 尽量不要使用肝素钠抗凝全血，否则提取的DNA中可能会残留有肝素钠，从而抑制PCR扩增。若肝素钠抗凝全血提取的DNA PCR扩增失败，可以稀释DNA模板的使用量。
  3. 裂解液LRS和结合液CB中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
  4. 本操作步骤是为从400  $\mu$ l全血中提取DNA而设计，如果从200  $\mu$ l或300  $\mu$ l全血中提取DNA，必须按比例减少裂解液LRS和结合液CB的用量。（注意必须严格按Buffer LRS：抗凝全血：结合液CB=3:4:3的体积比进行操作，否则将导致后续操作步骤不能进行），其他试剂用量不变。
  5. 禽类、两栖类、鱼类、少量特殊的哺乳动物等红细胞有核生物的全血DNA含量较高，推荐样品用量10微升，用生理盐水稀释到400微升。

## 操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

1. 取一个1.5毫升的离心管，依次加入300微升LRS和400微升的抗凝全血，盖上管盖，剧烈震荡3-5次，旋涡振荡30秒。混合均匀。
2. 离心管中加入300  $\mu$ l Buffer L2，盖上管盖，剧烈摇晃3 - 5次，再旋涡振荡30秒。
3. 13,000 rpm离心2min。

4. 将上一步所得上清液加入一个吸附柱AC中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm离心30秒, 倒掉收集管中的废液 (先加650 $\mu$ l离心, 弃废液, 再加入剩余的溶液, 再次离心)。
5. 在吸附柱AC中加入500  $\mu$ l去蛋白液WA (确认在Buffer WA中已经加入无水乙醇), 盖上管盖, 13000 rpm离心30秒, 弃掉废液。
6. 在吸附柱AC中加入 600  $\mu$ l 漂洗液WB (确认在漂洗液WB中已经加入无水乙醇), 盖上管盖, 13000 rpm离心30 秒, 弃掉废液。
7. 将吸附柱AC放回空收集管中, 13,000 rpm离心2 min, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
8. 取出吸附柱AC, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加100  $\mu$ l洗脱缓冲液EB, 室温放置3 - 5 min, 13,000 rpm 离心1 min。将得到的溶液重新加入吸附柱中, 室温放置2 min, 13,000 rpm离心1 min。洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果预计和需要产量高, 可增大洗脱体积, 如果需要DNA浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于30  $\mu$ l, 体积过小降低DNA洗脱效率, 减少DNA产量。
9. DNA可以短时存放在2-8 $^{\circ}$ C, ,如果要长时间存放, 可以放置在-20 $^{\circ}$ C。