

离心柱法中量血液基因组 DNA 提取试剂盒

【产品介绍】

本试剂盒使用红细胞裂解液选择性裂解红细胞，之后通过离心富集白细胞，经特异结合液配合蛋白酶 K 处理，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。适合于 400 μ L-2 mL 抗凝血（4℃冷藏不超过 1 个月）中纯化血液基因组 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】

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-006-0 (50 次)	目录号 CP-006-1 (50 次)
红细胞裂解液 RCL (10 \times)	25 mL	25 mL
结合液 CBB	18 mL	18 mL
去蛋白液 CCB	9 mL	9 mL
洗涤液 CWB	12 mL	12 mL
洗脱液 EB	20 mL	20 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℃，试剂盒其它成分置于室温干燥处保存。

【操作步骤】

使用前加入 225 mL 水稀释红细胞裂解液 RCL (10 \times) 至 1 \times ，并做好标记，放入 4℃保存。

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. 在血液样品中加入 2.5 倍血液体积的 1 \times 红细胞裂解液 RCL，涡旋振荡混匀，静置 2 min，后 12,000 \times g 离心 1 min，弃上清液。
2. 加入 300 μ L 洗脱液 EB 重悬沉淀（如需去除 RNA，可加入 10 μ L RNase A，室温处理 2 min）。
3. 加入 20 μ L 蛋白酶 K 以及 300 μ L 结合液 CBB 于样品中，涡旋 15 s 充分混匀，56℃水浴或金属浴加热 10 min，期间混匀数次。

4. 加热处理后加入 300 μL 无水乙醇，涡旋振荡混匀。
5. 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（溶液体积大于 700 μL ，建议分为 2 次上柱离心）。
6. 加入 500 μL 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。
7. 加入 500 μL 洗涤液 CWB（使用前确定已加入无水乙醇），12,000 $\times g$ 离心 30 s，弃流出液。
8. 重复步骤 7 一次。
9. 把离心柱放回收集管中，将空柱子于 15,000 $\times g$ 离心 2 min 以便彻底去除残留的 CWB。
10. 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）。
11. 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 $^{\circ}\text{C}$ 水浴或金属浴中预热）。
12. 12,000 $\times g$ 离心 1 min，洗脱 DNA，所得 DNA 置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 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。
- 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。