



Blood Genomic DNA Mini Kit (0.1-1 ml)

血液基因组柱式小量提取试剂盒 (0.1-1 ml)

目录号：CW2087S (50 preps)
CW2087M (200 preps)

保存条件：Buffer RCL 2-8℃，其他组分室温（15-30℃）。

产品内容

Component	CW2087S 50 preps	CW2087M 200 preps
Buffer RCL	125 ml	2×260 ml
Buffer GR	15 ml	50 ml
Buffer GL	15 ml	50 ml
Buffer GW1 (concentrate)	13 ml	52 ml
Buffer GW2 (concentrate)	15 ml	50 ml
Buffer GE	15 ml	60 ml
Proteinase K	12.5 mg	50 mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25 ml	5 ml
Spin Columns DM with Collection Tubes	50	200

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。本品可以处理0.1-1 ml的全血，最高得率可达30 µg，可纯化获得大小为100 bp到50 kb的DNA，纯化的DNA产量高、质量好，最大限度去除蛋白、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。

自备试剂：无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 向Proteinase K中加入指定用量的Proteinase K Storage Buffer使其溶解，-20℃保存。配制好的Proteinase K勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。

Cat. No.	CW2087S	CW2087M
Proteinase K Storage Buffer	1.25 ml	5 ml

2. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
3. 本试剂盒最多可以提取0.1-1 ml全血样品或 1×10^7 个白细胞。
4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇。
5. 使用前请检查Buffer GL是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer GL于56℃水浴孵育重新溶解。
6. 试剂盒中的Buffer RCL浑浊后不能继续使用。

操作步骤

1. 样品处理:

- 1a. 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。
- 1b. 当血液样本量小于200 μ l时, 加入Buffer GR补足至200 μ l, 再进行下一步实验。
- 1c. 当血液样本量超过200 μ l时, 加入1~2.5倍体积的Buffer RCL, 轻轻涡旋或颠倒混匀, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心1分钟, 小心吸弃上清液, 如果沉淀中还有红色, 可以重复以上步骤一次。然后向沉淀中加入200 μ l Buffer GR, 震荡至彻底混匀, 再进行下一步实验。
- 1d. 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Buffer GR, 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4 μ l RNase A (100mg/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: CW0601S。
2. 向以上溶液中加入20 μ l Proteinase K, 混匀。
3. 加入200 μ l Buffer GL, 震荡至彻底混匀。
注意: 不要将Proteinase K和Buffer GL进行预混。
4. 56 $^{\circ}$ 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。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(Spin Columns DM)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 Buffer GW1 (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 Buffer GW2 (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50-200 μ l Buffer GE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 $^{\circ}$ C保存DNA。

注意：1) 如果下游实验对pH值或EDTA敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的pH值对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（可以用NaOH将水的pH值调到此范围），pH值低于7.0时洗脱效率不高。

2) 如果要提高DNA的终浓度，可以将所得的DNA洗脱液重新加至吸附膜上，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟。

3) 因为保存在水中的DNA会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用Buffer GE洗脱并于-20 $^{\circ}$ C保存。