

干血斑、血卡、唾液卡 DNA 提取试剂

(离心柱型)

产品编号	规格
K314-10	10 次
K314-100	100 次
K314-200	200 次

产品简介

本试剂盒适用于从血保存卡、唾液保存卡、干血斑中提取基因组 DNA，提取后的基因
度 DNA 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	K314-10	K314-100	K314-200
消化液 (Buffer STE)	室温	5ml/瓶×1 瓶	40mL/瓶×1 瓶	100mL/瓶×1
裂解液 (Buffer ATL)	室温	6mL/瓶×1 瓶	60mL/瓶×1 瓶	120 mL /瓶×1
蛋白酶 K	冻存	200μL 支×1 支	2ml/支×1 支	5ml/支×1 支
洗液 1(wash1)	室温	6mL/瓶×1	36 mL/瓶×1 瓶	72 mL/瓶×1
洗液 2 (wash2)	室温	2mL/瓶×1 瓶	18 mL/瓶×1 瓶	36 mL/瓶×1
Elution Buffer	室温	1ml/支×1 支	5mL /瓶×1 瓶	10 mL/瓶×1
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 ATL) 产生沉淀，请先将裂解液 (Buffer ATL) 室温 (20-30℃) 条件下放置一段时间，必要时可放 37℃水浴中温浴 10 min，以溶解沉淀。

二、实验前准备

- 58℃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)	2ml	18ml	36ml
乙醇	8ml	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:

可以用灭菌处理后的打孔器 (Harris Uni-Cores Cat NO. 69036 6mm 或 8mm) 打取 1~2 片, 放入 2mL 离心管中, 加入 300 μ L 消化液(Buffer STE), 向以上溶液中加入 20 μ L Proteinase K, 混匀 58°C 水浴 20~60min。

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. 加入 400 μ L Buffer ATL, 震荡至彻底混匀。70°C 孵育 10 分钟。12000rpm 离心 1min, 转移上清至新的离心管中。

3. 加入 400 μ L **预冷**的无水乙醇, 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。

4. 将步骤 3 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。

5. 向吸附柱中加入 600 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。

6. 向吸附柱中加入 600 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 6。

7. 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)。

8. 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 20-50 μ L Elution buffer 或灭菌水, 室温放置 2 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 20 μ L, 体积过小影响回收效率。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4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**600μl洗液1(Wash 1)**、**600μl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20~50μl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℃保存或立即使用。