

# Blood DNA Purification Kit说明书

Cat.No.:B0008

使用本产品前，请务必仔细阅读本说明书，以保证操作正确

## 产品组分

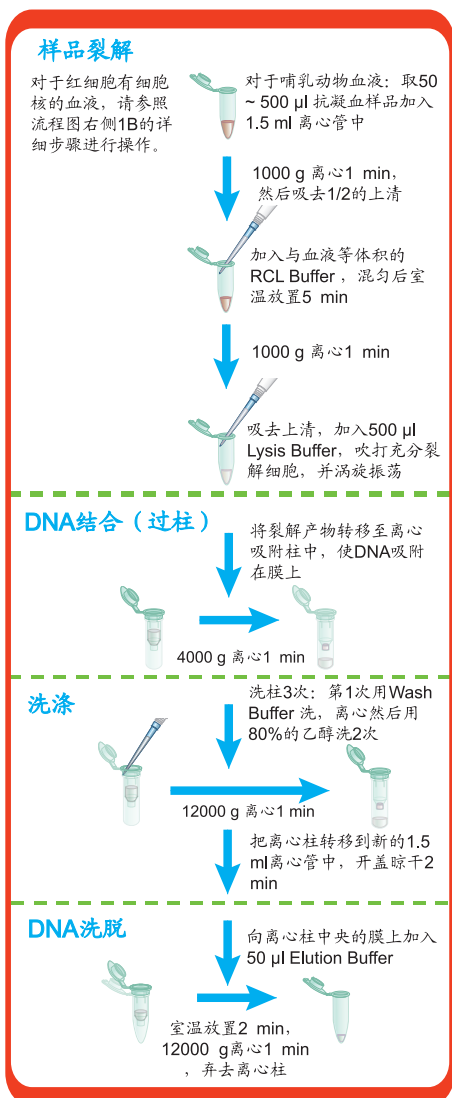
组分	B0008 (100 Preps)
RCL Buffer	60 ml
Lysis Buffer	55 ml
Wash Buffer*1	13 ml
Elution Buffer	10 ml
Spin Columns for DNA (with Collection Tubes)	100 Preps

注：\*1. Wash Buffer首次使用前，请加入52 ml的无水乙醇并充分混匀。

## 保存条件

本产品中的RCL Buffer和Spin Columns for DNA需避光保存在4°C，其余所有组分保存在室温，可稳定保存18个月。过期日期详见产品标签中有效期信息。

## 实验流程



## 注意

1. 收集血液样品时，建议用柠檬酸（钠）或EDTA作抗凝剂，不建议用肝素钠作抗凝剂，否则会对实验结果造成明显的影响。
2. Wash Buffer首次使用前须加入52 ml的无水乙醇并充分混匀（Wash Buffer与无水乙醇的体积比为1:4）。
3. 实验开始前需用灭菌水配制120 ml的80%乙醇，用于洗涤步骤。
4. 实验开始前需将Elution Buffer提前预热到60°C。
5. DNA提取须在室温进行，提取过程中不可置于冰上。

## 样品裂解

### 1A. 对于哺乳动物血液

a1. 去除血浆：取50 ~ 500  $\mu$ l抗凝血加入1.5 ml离心管中，1000 g（约为实验室常用的小型高速离心机的3500 rpm）离心1 min（对于冻存的血液，充分融化后按照上述步骤离心。冻存的血液最多不可冻融超过3次，否则无法得到高质量的DNA）。然后小心地用移液器吸去约占血液总体积1/2的上清。

a2. 去除红细胞：向上一步溶液中加入红细胞裂解液（RCL Buffer），其体积与最初的血液体积相同（如果开始使用500  $\mu$ l全血，则RCL Buffer应使用500  $\mu$ l），轻柔吹打10次左右混匀，室温放置5 min；然后进行第2步。

### 1B. 对于红细胞有细胞核的全血（如鱼类、两栖类、爬行类、鸟类）

取5 ~ 20  $\mu$ l解冻后的抗凝血加入1.5 ml离心管中，加入200  $\mu$ l PBS充分混匀；然后进行第2步。

2. 离心：1000 g离心1 min，用移液器小心地吸去上清（尽量把上清吸干净，并且避免吸走沉淀）。
3. 裂解：向细胞沉淀中加入500  $\mu$ l裂解液（Lysis Buffer），吹打10次以充分裂解细胞。
4. 振荡：用涡旋振荡器高速震荡10 sec（或用手用力上下振荡离心管使样品变得澄清），以充分裂解细胞。

## DNA结合（过柱）

5. 将上述细胞裂解产物转移至DNA离心吸附柱（Spin Column for DNA）中，4000 g离心1 min，弃去收集管中的液体（然后将收集管在吸水纸或卫生纸上倒扣几下吸去管口的液体），将离心柱放回收集管中。

## 洗涤

6. 加入500  $\mu$ l洗涤液（Wash Buffer）到离心吸附柱中，12000 g离心1 min，弃去收集管中的液体（然后将收集管在吸水纸或卫生纸上倒扣几下吸去管口的液体），将离心柱放回收集管中。

7. 加入500  $\mu$ l的80%乙醇到离心吸附柱中，12000 g离心1 min，弃去液体。用300  $\mu$ l的80%乙醇重复洗涤一次（注意：将样品从离心机中取出，以及将离心柱从收集管中取出时，应防止离心柱下部接触到液体从而导致DNA被污染。如果液体不慎接触到离心吸附柱底部，需要弃去液体后空柱离心1 min以充分去除液体）。

8. 弃去收集管，将离心柱转移至无酶的1.5 ml离心管中，开盖晾干2 min。

## DNA洗脱

9. 向离心柱中央的膜上加入50  $\mu$ l洗脱液（Elution Buffer）（可用20 ~ 100  $\mu$ l，提前预热到60°C），室温放置2 min。

10. 12000 g离心1 min，弃去离心柱，所得的DNA可以进行浓度测量并进行后续实验，或储存于-20°C备用（如需长期保存建议置于-80°C）。

## Blood DNA Purification Kit Trouble Shooting

### 1. DNA纯度不佳。

解决办法:

- 检查所使用的试剂是否正确加入乙醇，是否受到污染：可与未使用过的产品作对照，比较两组结果是否一致。建议产品开封后，每种buffer分装为3~4份（可用15 ml离心管分装），每次使用时应严格按照规范操作，防止交叉污染。
- 裂解产物过柱离心后充分弃净液体：裂解产物转移至DNA离心吸附柱上4000 g离心后，应倒掉液体并用吸水纸吸净残留在收集管口的液体；后续的洗涤、离心后也应倒掉液体并用吸水纸吸净残留在收集管口的液体。
- 80%的乙醇洗涤2次后；小心地取出离心柱，应严格防止离心柱底部碰到收集管中的液体。如果液体不慎接触到离心柱底部，需要弃去液体后空柱离心1 min以充分去除液体。

### 2. DNA得率低于预期。

解决办法:

- 尽管理论上使用本产品能从100  $\mu$ l血液中提取3~6  $\mu$ g DNA，然而由于随着血液用量的加大，离心柱的吸附能力逐渐接近上限（约30  $\mu$ g），因此该离心柱通常无法提取多于30  $\mu$ g的DNA。
- 血液样品准备好后应尽快开始进行实验操作，样品不要放置过长时间，以免DNA发生降解。
- 对于冰冻保存的血液样品：冻融次数不要超过3次，否则提取的DNA质量会大大降低（解冻时应该用37 $^{\circ}$ C水浴或金属浴充分融化）。

### 代表性实验结果

左下图：本产品从50  $\mu$ l、100  $\mu$ l和200  $\mu$ l猪的血液样品（分别为泳道1、2、3）中提取的DNA溶解于50  $\mu$ l Elution Buffer中，取5  $\mu$ l上样，跑琼脂糖凝胶电泳后的结果。

右下图：本产品从200  $\mu$ l猪的血液样品中提取的DNA溶解于50  $\mu$ l Elution Buffer中，使用Nanodrop测浓度所得的结果。

