

版本号: DP150626

TIANamp Blood DNA Kit

血液基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP348

产品内容

产品组成	DP348-02 (50 preps)	DP348-03 (200 preps)
细胞裂解液CL (Buffer CL)	60 ml	250 ml
缓冲液GS (Buffer GS)	15 ml	50 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	15 ml	50 ml
缓冲液BD (Buffer BD)	20 ml	80 ml
缓冲液GDB (Buffer GDB)	30 ml	120 ml
漂洗液PWB (Buffer PWB)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml	60 ml
Proteinase K	1 ml	4 × 1 ml
吸附柱CG2 (Spin Columns CG2)	50个	200个
收集管(2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个
1.5 ml离心管 (Centrifuge Tubes 1.5 ml)	50个	200个

选配试剂

RNase A (100 mg/ml) (目录号: RT405-12)

存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8°C。2-8°C保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，提取血液中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。

使用本试剂盒纯化的DNA适用于酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等各种常规实验，和芯片杂交、高通量测序等高质量DNA需求的实验。

产品特点

1. 样本适用广泛：可从抗凝血（EDTA，肝素等）、白膜层和血凝块等样品中直接提取基因组DNA。
2. 高质量：独特的裂解缓冲体系，纯化的DNA具有高浓度，高纯度，完整性好等特点，满足芯片杂交，高通量测序等实验需求。
3. 快速无毒：采用硅胶膜吸附原理，无需酚氯仿，1 h内即可完成实验。

提取得率

样本	提取量(μl)	DNA得率(μg)
哺乳动物全血	100-500	3-10
	500-1000	10-30
禽类、两栖类全血	5-20	5-40
血凝块	200-500	1-8
	500-1000	8-15

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小、提取量下降。
 2. 若缓冲液GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，摇匀后使用。
 3. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
 4. 如样本为血凝块，推荐使用血凝块基因组DNA提取试剂（TIANGEN，DP335），或可购买液化柱CX1（TIANGEN，RK165）配合DP348使用。
 5. 如需去除RNA残留，需自备RNase A（100 mg/ml）溶液（TIANGEN，RT405-12）。
-

操作步骤

使用前先在漂洗液PWB中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 处理血液样品（本产品适用于处理100 μ l-1 ml血液样品）：

- a. 提取200 μ l血液样品时，可直接进行下一步实验。
- b. 提取小于200 μ l血液样品时，可加缓冲液GS补足体积至200 μ l，再进行下一步实验。

注意：步骤a和b适用于大多数100-200 μ l血液样品的提取，但有些血液样品由于蛋白，糖类，脂类含量较多或样本 存条件不佳会导致OD260/OD230比 偏低，如需提高OD260/OD230比 可在样品中加入1-2.5倍血液样品体积的细胞裂解液CL进行处理，具体步骤同c。

- c. 提取大于200 μ l血液样品时，需细胞裂解液CL处理，具体步骤如下：在样品中加入1-2.5倍血液样品体积的细胞裂解液CL，颠倒混匀，10,000 rpm (~11,500 \times g)离心1 min，吸去上清，留下细胞核沉淀（如果裂解不彻底，可加入1-2.5倍血液样品体积的细胞裂解液CL重复裂解一次），向细胞核沉淀中加200 μ l缓冲液GS，振荡至彻底混匀，再进行下一步实验。
- d. 当处理血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液，红细胞有核细胞，因此处理量为5-20 μ l，加缓冲液GS补足200 μ l，再进行下一步实验。
- e. 当处理血样为血凝块，可选择液化柱CX1（TIANGEN，RK165）（需自备）对血凝块进行液化处理，具体步骤如下：

- e1. 取血凝块至液化柱CX1中，12,000 rpm (~11,500 \times g)离心1 min，收集滤液（若血凝块量大可分批多次过柱离心，收集滤液）。

- e2. 取100 μ l-1 ml滤液加入1-2.5倍血液样品体积的细胞裂解液CL，颠倒混匀，10,000 rpm (~11,500 \times g)离心1 min，吸去上清，留下细胞核沉淀（如果裂解不彻底，可加入1-2.5倍血液样品体积的细胞裂解液CL重复裂解一次），向收集到的细胞核沉淀中加200 μ l缓冲液GS，振荡至彻底混匀，再进行下一步实验。

注意：如果需要去除RNA，可加入4 μ l RNase A (100 mg/ml) 溶液 (TIANGEN, RT405-12) (需自备) 至上述处理获得的200 μ l样品中，振荡15 sec，室温放置5 min。

2. 加入200 μ l缓冲液GB和20 μ l Proteinase K的预混溶液至上述处理获得的200 μ l样品中，充分颠倒混匀，56 $^{\circ}$ C放置10 min，其间颠倒混匀数次，溶液应变清亮（如溶液未彻底变清亮，请延长裂解时间至溶液清亮为止）。
-

注意：加入缓冲液GB时可能会产生白色沉淀，一般37℃放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。当血液体积≥200 μl且没有采用红细胞裂解处理，或是样本保存条件不佳，水浴后颜色可能为深褐色，注意溶液中没有团块等沉淀。

注意：如果血液样品经过细胞裂解液CL处理，大多数情况下加入缓冲液GB充分颠倒混匀后，室温放置5 min（其间颠倒混匀1-2次）即可得到高质量基因组DNA。

3. 室温放置2-5 min后加入350 μl缓冲液BD，充分颠倒混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
4. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CG2中（吸附柱CG2放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 × g) 离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CG2放入收集管中。
5. 向吸附柱CG2中加入500 μl缓冲液GDB，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CG2放入收集管中。
6. 向吸附柱CG2中加入600 μl漂洗液PWB（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 × g) 离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CG2放入收集管中。
7. 重复操作步骤6。

注意：如果血样经过细胞裂解液CL处理，可省略步骤7。

8. 12,000 rpm (~13,400 × g) 离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CG2置于室温放置2 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

9. 将吸附柱CG2转入1.5 ml离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加50-200 μl洗脱缓冲液TB，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于50 μl，体积小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CG2中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心2 min。洗脱液的pH对于洗脱效率有很大影响。若用ddH₂O做洗脱液应保证其pH在7.0-8.5范围内，pH 低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。
