

版本号: DP180627

TIANamp N96 Blood DNA Kit

N96血液基因组DNA提取试剂盒

(离心板型)

目录号: DP314

产品内容

产品组成	DP314 (4 plates)
细胞裂解液CL (Buffer CL)	4 × 250 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	2 × 50 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	2 × 52 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	3 × 50 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	60 ml
Proteinase K	8 × 1 ml
半裙边96孔吸附板CB3 (N96 Plate CB3(H))	4 个
96孔深孔板 (N96 Well Plate)	12 个
封口膜 (Plate Cover)	36 张

储存条件

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下，可保存12个月，更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃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℃水浴中预热10 min，以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒可以处理新鲜、冻存的全血材料。96孔吸附板CB3上的硅胶膜可以特异性吸附、结合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（最大可达50 kb，一般为20-30 kb），纯度高，质量稳定可靠。可以同时处理96个样品。操作时无需酚/氯仿抽提，乙醇沉淀。本试剂盒同样适用于从培养细胞或动物组织中提取基因组DNA。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

提取得率

材料	提取量	DNA得量
全血	200 μ l-600 μ l	4-20 μ g

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 使用前请按照瓶上标签在缓冲液GD和漂洗液PW中加入相应体积的无水乙醇。。
 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. 若缓冲液GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解。
 4. 所有的离心步骤均为室温下进行。
 5. **洗脱缓冲液体积不应少于50 μ l，体积过小影响回收效率。**
 6. 洗脱液的pH对于洗脱效率有很大影响。若用去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。
 7. 使用排枪时应注意不要打湿96孔板孔口。离心时，封口膜务必封盖严实，以防离心过程中有液体溅出产生交叉污染。
-

操作步骤（200 μ l 血液处理流程）

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 在96孔深孔板中加入20 μ l Proteinase K。
2. 每孔加入200 μ l 血液样品，并对每个样品做相应的标记。
3. 加入200 μ l 缓冲液GB，枪头抽打20次，加盖新的封口膜，56 $^{\circ}$ C放置30 min，且每10 min取出轻柔晃动。

注意：不要剧烈晃动，防止液体溅出产生交叉污染。当样本数目比较大时，可以按每200 μ l GB加入20 μ l Proteinase K的比例预先混合，混合后每个样本用量为220 μ l。

4. 揭去封口膜，加入200 μ l 无水乙醇，枪头抽打20次混匀。
5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个96孔吸附板CB3中（吸附板放入新的96孔深孔板中），加盖新的封口膜3,600 rpm(\sim 2,130 \times g)离心10 min，倒掉深孔板中的废液，将吸附板重新放在深孔板上。
6. 向96孔吸附板CB3中加入500 μ l 缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），加盖新的封口膜3,600 rpm(\sim 2,130 \times g)离心10 min，倒掉深孔板中的废液，将吸附板重新放在深孔板上。
7. 向96孔吸附板CB3中加入500 μ l 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），加盖新的封口膜3,600 rpm(\sim 2,130 \times g)离心10 min，倒掉废液，将吸附板重新放在深孔板上。
8. 向96孔吸附板CB3中加入500 μ l 漂洗液PW，加盖新的封口膜3,600 rpm(\sim 2,130 \times g)离心15 min，倒掉废液，将吸附板重新放在深孔板上。
9. 3,600 rpm(\sim 2,130 \times g)离心10 min，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

10. 将96孔吸附板CB3转入一个新的96孔深孔板中，向吸附膜的中间部位悬空滴加80 μ l洗脱缓冲液TB，室温放置5-10 min，加盖新的封口膜3,600 rpm(\sim 2,130 \times g)离心10 min收集DNA，用新的封口膜封口后用于下游实验或者-20 $^{\circ}$ C保存。

注意：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 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。

操作步骤（600 μ l 血液处理流程）

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 处理材料：

将600 μ l 的血液样品加到96孔深孔板中，并对每个样品做相应的标记。向每孔样品中加入2倍样品体积的细胞裂解液CL（深孔板最多容量为2.2 ml），枪头抽打20次混匀，加盖封口膜，3,600 rpm(\sim 2,130 \times g)离心10 min，揭去封口膜，抽弃上清；

2. 再次加入2倍样品体积的细胞裂解液CL，枪头抽打10-20次混匀，加盖新的封口膜，3,600 rpm(\sim 2,130 \times g)离心10 min，抽弃上清至剩余约200 μ l 残留溶液。

3. 加入20 μ l Proteinase K和200 μ l 缓冲液GB，枪头抽打20次，加盖新的封口膜，56 $^{\circ}$ C放置30 min，且每10 min取出轻柔晃动。

注意：当样本数目比较大时，可以按每200 μ l GB加入20 μ l Proteinase K的比例预先混合，混合后每个样本用量为220 μ l。

4. 此后操作接200 μ l 血液处理流程4。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 μ g/ml双链DNA、40 μ g/ml单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。