

版本号: DP180625

TIANamp Blood DNA Midi Kit

中量血液基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP335

产品内容

产品组成	DP332-01 (10 preps)
缓冲液GE (Buffer GE)	40 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml
Proteinase K	2 × 1 ml
吸附柱CB5 (Spin Columns CB5)	10个
收集管 (15 ml) (Collection Tubes 15 ml)	20个

选配组分

RNase A (100 mg/ml) (目录号: RT405-12) ; 液化柱 CX2 (Liquefaction Columns CX2)目录号: RK166)

储存条件

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

常见得率（抗凝血样本）：20-60 $\mu\text{g/ml}$

产品特点

简单快速：1 h内即可获得超纯的基因组DNA。

超 纯：所得DNA纯度高，可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

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片段较小且提取量也下降。
 2. 若缓冲液GE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. 若提取血凝块样本，请自备血凝块液化柱CX2，目录号：RK166。
-

操作步骤

第一次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. 向15 ml离心管加入200 μ l Proteinase K (20 mg/ml)溶液。
2. 处理材料：
 - a. 如果提取血液样本，直接加入0.5-3 ml血液样本，混匀。
 - b. 如果提取血凝块样本，将一个血凝块液化柱CX2（选配组分，目录号：RK166）放入上述装有Proteinase K溶液的15 ml离心管中，再向过滤柱加入0.5-3 ml血凝块样本，6,000 rpm ($\sim 8,228 \times g$) 离心1 min。

注意：也可以先将血液样本加到离心管中，或者先将处理后的血凝块样本离心收集到离心管中，再加入ProteinaseK，但要保证彻底混匀。

3. 向装有血液样本的离心管中加入2.4 ml缓冲液GE，振荡30 sec混匀。

注意：若提取2-3 ml样本，可以增加缓冲液GE用量至3.6 ml。

如果需要去除RNA，可加入40 μ lRNase A (100 mg/ml) 溶液（选配组分，目录号：RT405-12），振荡15 sec，室温放置5 min。

4. 65°C放置10 min，每隔3 min振荡一次，以助裂解。简短离心以收集管盖内壁的水珠（如遇特殊样本，未能很好裂解，请适当延长孵育时间）。
5. 向样本中加入2 ml无水乙醇，混匀，此时可能出现絮状沉淀。

注意：若从水浴锅取出的样本温度过高，请在室温冷却后再加入无水乙醇。

若提取2-3 ml血液样本，可以增加无水乙醇量至3 ml。

6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀的一半转移至一个吸附柱CB5中（吸附柱放入15 ml收集管中），3,000 rpm ($\sim 1,850 \times g$)离心3 min，倒掉废液，将吸附柱CB5放回收集管中。
 7. 将步骤6剩余的溶液再转入同一个吸附柱中，重复步骤6操作。
 8. 向吸附柱CB5中加入2 ml缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），5,000 rpm ($\sim 4,500 \times g$)离心1 min，倒掉废液，将吸附柱CB5放回收集管中。
 9. 向吸附柱CB5中加入2 ml缓冲液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），5,000 rpm ($\sim 4,500 \times g$)离心1 min，倒掉废液，将吸附柱CB5放回收集管中。
-



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
 - 技术公开课合辑
 - 全线产品查询
 - 在线专家客服
 - 微信直播课堂
 - 最新优惠活动
-

10. 向吸附柱CB5中加入2 ml缓冲液PW，5,000 rpm (~4,500×g)离心15 min，丢弃收集管，将吸附柱CB5放到一个新的15 ml离心管中。

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，此步骤目的是将剩余的乙醇清除。

11. 向吸附膜的中间部位悬空滴加300 μl洗脱缓冲液TB，室温放置5 min，5,000 rpm (~4,500×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200 μl，体积过小影响回收效率。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CB5中，室温放置2 min，5,000 rpm (~4,500×g)离心2 min。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。

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。回收得到的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 μg/ml双链DNA、40 μg/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。
