

版本号: DP130520

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: DP332

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

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℃) 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. 步骤1-5涉及的15ml离心管需要自备，目录号：24-1500-1（仅限标准15ml离心管，使用前请确定吸附柱与离心管匹配）。
 5. 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

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，8,000 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。在少数情况下，血凝块1 min离心后没有被完全剪碎，在这种情况下，可以延长1 min继续离心。

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。

4. 65 $^{\circ}$ 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。
-

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℃，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。
