

AccuRef 全血基因组 DNA 提取试剂盒说明书
AccuRef Blood Genomic DNA Extraction Kit
RM0111

保存条件

RNase A 、蛋白酶 K 于-20 °C保存；其它试剂室温(15°C-25°C) 干燥保存，保存 12 个月不影响效果。

产品信息

产品名称	产品货号	规格
全血基因组 DNA 提取试剂盒	RM0111S	50 次
	RM0111M	100 次

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，提取全血基因组 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，能够高效、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。使用本试剂盒提取的基因组 DNA 可用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

产品内容

试剂盒内容	50T	100T
RNase A	1mL	1mL×2
蛋白酶 K	1mL	1mL×2
红细胞裂解液	120mL	120mL×2
溶液 A	15mL	25mL
溶液 B	15mL	30mL
漂洗液	15mL	15mL×2
洗脱液	10mL	20mL
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个

使用方法

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶体上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1、样品的处理(本产品适用于处理新鲜的或已经添加抗凝剂的 0.1mL- 1mL 血液样品):

a、在血液样品中加入 3 倍体积的红细胞裂解液，充分颠倒混匀，室温放置 2-5min，12000rpm 离心 2min，小心吸去上清，沉淀应为白色或淡红色，如果裂解不彻底，可重复以上步骤一次。向沉淀中加 200 μ L 溶液 A，振荡至彻底混匀。

b、如果处理的血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级动物的血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量为 5-20 μ L，不需要再用红细胞裂解液处理，直接加 200 μ L 溶液 A，振荡至彻底混匀。

2、向悬浮液中加入 20 μ L 的 RNase A (10mg/mL)，充分颠倒混匀，室温放置 10min。

3、加入 20 μ L-30 μ L 的蛋白酶 K(10mg/mL)，充分颠倒混匀，60 $^{\circ}$ C 水浴消化 30-60min，消化期间可颠倒离心管混匀数次，直至样品消化完全为止。

4、加入 100 μ L 的溶液 B，充分颠倒混匀，若出现浑浊，可放至 60 $^{\circ}$ C 水浴 10min。

5、加入等体积的无水乙醇，充分颠倒混匀，此时可能会出现絮状沉淀，不影响 DNA 的提取，可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中，室温放置 2min。

6、12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

7、向吸附柱中加入 600 μ L 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

8、向吸附柱中加入 600 μ L 漂洗液，12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

9、12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口置于室温或 50 $^{\circ}$ C 温箱放置数分钟，

目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。

10、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 50-200 μ L 经 65 $^{\circ}$ C 水浴预热的洗脱液，室温放置 5min，12000rpm 离心 2min。

11、离心所得洗脱液可再加入吸附柱中，12000rpm 离心 2min，即可得到高质量的基因组 DNA。

注意事项

1、本试剂盒置于室温(15 -25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下可保存 12 个月，更长时间的保存可置于 2 -8 $^{\circ}$ C。

2、常用的血液抗凝剂有 EDTA、ACD 和肝素等，需注意的是，如欲制备大分子量血液基因组 DNA，可优先考虑使用 ACD 抗凝。一般不使用肝素抗凝，因为用肝素抗凝的血液提取的基因组 DNA 进行 PCR 扩增时，有 PCR 扩增抑制现象。

3、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。

4、如果试剂盒中的溶液出现沉淀，可在 65 $^{\circ}$ C 水浴中重新溶解后再使用，不影响效果。

5、绝大多数哺乳动物全血中的红细胞无核，故在提取基因组 DNA 时需去除不含 DNA 的无核红细胞，以免影响白细胞裂解和 DNA 释放。如果处理的血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级动物的血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量减少为 5-20 μ L，不需要再用红细胞裂解液来裂解红细胞。

6、洗脱缓冲液的体积最好不少于 50 μ L，体积过小会影响回收效率；洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响；若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。