

全血基因组DNA小量纯化试剂盒

25 T WLA057a 50T WLA057b



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

产品名称 全血基因组DNA小量纯化试剂盒

产品概述 本试剂盒用于提取加入抗凝剂的无核红细胞和有核红细胞全血中基因组DNA, 试剂盒采用独特的红细胞裂解方法裂解全血中无核红细胞, 之后由细胞裂解液裂解白细胞并释放基因组DNA, 再利用DNA制备膜技术纯化基因组DNA。本试剂盒具有使用快捷、高效等特点, 全程操作约需60min就可获得高纯度基因组DNA。

包装信息

试剂盒	WLA057a (25T)	WLA057b (50T)	保存条件
Proteinase K	500 μ l	1ml	-20 $^{\circ}$ C
R Nase A (10mg/ml)	250 μ l	500 μ l	-20 $^{\circ}$ C
10x溶液A	2ml	4ml	室温
10x溶液B	8ml	16ml	室温
溶液GB	7ml	13ml	室温
漂洗液WA	15ml	30ml	室温
漂洗液WB	10ml	20ml	室温
洗脱缓冲液EB	5ml	10ml	室温
吸附柱AC	25支	50支	室温
收集管	25支	50支	室温

注意事项

- 10x溶液A与10x溶液B在使用前请按照1:4的比例混合, 得到10x溶液混合物即为红细胞裂解液, 此裂解液可以现用现配, 也可以将10x溶液A全部倒入10x溶液B试剂瓶中, 于4 $^{\circ}$ C保存1年。
- 漂洗液WB在使用前, 请添加40ml (25T规格) 或者80ml (50T规格) 100%无水乙醇。

操作流程

实验前的准备

1. 准备56 $^{\circ}$ C水浴。
- 10x溶液A与10x溶液B在使用前请按照1:4的比例混合, 得到10x溶液混合物即为红细胞裂解液, 此裂解液使用前用灭菌蒸馏水将10x溶液混合物稀释10倍后使用, 并且按照要处理全血2倍体积量准备1x溶液混合物, 要现配现用。
- 漂洗液WB在首次使用前, 请根据试剂盒规格添加相应量的100%乙醇, 混合均匀。
- 洗脱结合于DNA制备膜上的基因组DNA时, 将洗脱液或灭菌蒸馏水加热至65 $^{\circ}$ C使用会提高基因组DNA的洗脱效率。

操作步骤

包括红细胞裂解、DNA释放、DNA与膜结合、DNA纯化等步骤, 详细说明如下:

对于无核红细胞血液来说:

- a. 新鲜全血: 样本用量200 μ l-1ml, 之后操作步骤按照1-15。
- b. 冻存全血: 样本用量200 μ l-1ml, 2000rpm离心5min, 弃多余上清, 保留200 μ l上清及沉淀物, 之后操作步骤按照7-15。

对于有核红细胞血液来说: 样本用量不要超过10 μ l, 用PBS将全血总体积补至200 μ l后按照步骤7-15操作。

- 1x红细胞裂解液的制备。(见实验前准备)
- 向全血样本中加入样本体积1.5倍的1x红细胞裂解液摇匀, 室温静置15min。
- 2000rpm离心5min, 弃上清。(离心时请勿超过2000rpm)
- 向沉淀中加入样本量0.5倍体积的1x红细胞裂解液混匀, 之后将溶液转移至1.5ml的离心管中, 室温静置10min。之后2000rpm离心2min, 弃上清(离心时请勿超过2000rpm)。
- 重复步骤4。观察沉淀中是否有未裂解的红细胞, 如果有请再重复步骤4直至红细胞全部裂解。
- 加入200 μ l PBS重悬细胞。

全血基因组DNA小量纯化试剂盒

25 T WLA057a 50T WLA057b



仅用于科学研究,不能用于诊断

产品信息

7. 向处理好的样品中加入200 μ l溶液GB、20 μ l的Proteinase K 以及10 μ l的RNase A (10mg/ml) , 充分吸打混匀, 于56 $^{\circ}$ C水浴温浴10min。
8. 加入200 μ l100%乙醇, 充分吸打混匀。
9. 将吸附柱AC安置于收集管上, 溶液移至吸附柱中12000rpm离心2min, 弃滤液。
10. 在吸附柱AC中加入500 μ l溶液WA, 12000rpm离心1min, 弃滤液。
11. 在吸附柱AC中加入500 μ l溶液WB, 12000rpm离心1min, 弃滤液。(添加溶液WB时, 可将溶液沿管壁加入, 有助于洗脱管壁中的盐分。)
12. 重复步骤11。
13. 再次将吸附柱AC安置于收集管上, 12000rpm离心2min, 弃滤液。
14. 将吸附柱AC安置于新的1.5ml离心管上, 在吸附柱膜的中央处加入30-200 μ l的灭菌水或洗脱缓冲液EB, 室温静置5min。(注: 将灭菌蒸馏水或洗脱缓冲液EB加热至65 $^{\circ}$ C使用时有利于提高洗脱效率)
15. 12000rpm离心2min洗脱DNA, 如需获得更大收量可将离下液重新加入吸附柱膜的中央或再加入30-200 μ l的灭菌水或洗脱缓冲液EB, 室温静置5min后12000rpm离心2min洗脱DNA。
16. 提取到的基因组DNA可通过电泳或吸光度测定以定量。