

Biospin Whole Blood Genomic DNA Midi Extraction Kit

Biospin 中量全血基因组 DNA 提取试剂盒

TECHNICAL SUPPORT:

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211, or fax to
0086-571-87774553

Email to reagent@bioer.com.cn.

Website: www.bioer.com.cn

试剂盒组成

货号	BSC06S1B
试剂盒组成	10 人份
PK solution	1.5ml
Balance Buffer	10ml
5×RCL Buffer	60ml
NS Buffer	20ml
LysisB Buffer	20ml
WB1 Buffer	17.2ml (加入 22.8ml 乙醇)
Wash Buffer	21ml (加入 49ml 乙醇)
Elution Buffer	20.0ml
MidiSpin column	10
说明书	1 份

储存条件

- ◆ PK solution 和 5×RCL Buffer 保存于 2~8℃，其余成分保存于室温。
- ◆ 所有试剂如果保存得当，可稳定使用 18 个月。

介 绍

本产品采用独特的基因组DNA缓冲系统,简单、快速和有效的分离常用抗凝剂(柠檬酸钠、EDTA及肝素)处理的血液样品中的高分子量DNA。本法基于对基因组DNA具有高度选择性的高分子膜材料,只需几个步骤即可完成提取过程,可以在短时间内完成10ml血液DNA的提取。无需昂贵的设备,完全避免采用有毒或是具有危险性的试剂,如苯酚、氯仿等。常规情况下,使用本产品可以从10ml血液中提取150~250 μg基因组DNA。纯化的DNA可以广泛应用于PCR/Real-Time PCR、测序、Southern杂交、突变分析、SNP、以及其它主要分子生物学的下游实验。

需要的配套设备和材料

- * 无菌15ml/50ml离心管
- * 10ml一次性移液管和无菌移液器吸头
- * 离心机（最大转速 $>5,000g$ ）
- * 无水乙醇（ $>99\%$ ）
- * 漩涡振荡器
- * 水浴锅或金属浴

第一次使用前请注意：

- (1) 请按照瓶身标签向WB1 Buffer和Wash Buffer中加入无水乙醇并充分振荡混匀。
- (2) RCL Buffer制备：取干净的试剂瓶，将5×RCL Buffer和超纯水按照1:4的比例混合。
- (3) 使用前在每支MidiSpin column中加入1ml Balance Buffer， $5,000\times g$ 离心3min，弃去套管内液体，备用。（**使用Balance Buffer处理后，可以明显提高DNA得率**）

1. 样本处理：

- a. 取 $\leq 10ml$ 的新鲜抗凝全血，加入到50ml锥底离心管（自备）中，加入3倍体积的RCL Buffer，上下轻柔颠倒混匀10次，室温孵育15min，直至溶液清亮。 $5000\times g$ 离心3min。弃去上清，尽可能将上清吸净（注意：不要损失管底白细胞）。

然后加入2ml NS Buffer，最大速度振荡20sec，使收集的白细胞充分分散悬浮。

- b. 取 $\leq 10ml$ 的冻存抗凝全血，需将血液化冻后， $1500\times g$ 离心15min，小心去除上层血浆，收集中间白膜层（约100 μl ），然后加入NS Buffer补足至2ml，最大速度振荡20sec，使收集的白细胞充分分散悬浮。
- c. 从哺乳动物血液中提取DNA方法与人类血液相同。
- d. 从鸟类血液中提取DNA需将不多于200 μl 血液样本，加NS Buffer稀释至2ml，混合均匀后，直接进行步骤2提取。

2. 加入150 μl PK Solution，振荡混匀，然后加入2ml LysisB Buffer，振荡混匀15sec。

3. $56^{\circ}C$ 温育 60min。期间每隔 15min 振荡离心管一次。

4. 在上述离心管中加入 2ml 无水乙醇，充分振荡混匀 15sec。

5. 将步骤 4 中混合液转移至 MidiSpin column（**请确认已用 Balance Buffer 处理**）中。 $5,000\times g$ 离心 5min，弃去套管内液体。分两次过柱，每次 3ml。

（注意：如果经过两次过柱后柱内仍然有液体残留，请增加一次离心步骤，以使液体全部通过离心柱后再进行下步操作）

6. 将 3ml WB1 Buffer 加入 MidiSpin column 中； $5,000\times g$ 离心 2min，并弃去套管内液体。

7. 将 3ml Wash Buffer 加入 MidiSpin column 中； $5,000\times g$ 离心 2min，并弃去套管内液

体。

8. 重复步骤 7.

9. 再将 MidiSpin column 放回接液管上，**开盖** 5,000×g 室温离心 10min。

注：开盖离心能更有效的去除残留的乙醇，乙醇残留会影响最后的洗脱效率。

10. 将 MidiSpin column 移到一只干净的 15ml 离心管（不提供）中。

11. 向离心柱内加 1ml（70 °C 预热）Elution Buffer，于室温静置 5 分钟。于 5,000×g 离心 2 分钟，离心管内液体中含有基因组 DNA。若想提高得率（第一次洗脱可得到 60% 的 DNA），请将离心管中收集的液体再次加入 DNA 柱膜中，室温放置 2 分钟，5000 x g 离心 2 分钟。提纯的基因组 DNA 如果不立即使用，请保存于-20°C。

常见问题及对策

■ 试剂盒能提取的全血用量

本试剂盒适用于不多于 10ml 的全血基因组提取。

■ 关于样本类型

本试剂盒主要应用于人类的全血样本基因组 DNA 提取，也可用于其他哺乳动物血液或鸟类血液 DNA 提取。

■ 血液的储存方法及存放时间

新鲜血液存放于 2~8°C 中小于 2 周或者-20°C 保存 1 年，如经过-20°C 保存，需将血液化冻后再进行 DNA 提取的操作。

■ 洗脱液中 DNA 含量少或基本没有

- 1) 样本中白细胞过低（针对人类或其他哺乳动物血液）。
- 2) 冻存血白细胞会有破裂，建议血液化冻后离心去除上层血浆收集中间白膜层提取。
- 3) 未将蛋白酶 K 保存于 2~8°C 环境，导致其活性降低。
- 4) 没有在第一次使用前按要求向 WB1 Buffer 和 Wash Buffer 中加入无水乙醇。

■ 提取鸟类血液时，将样本、PK Solution 和 Lysis B Buffer 混合后，液体非常粘稠

鸟类血液样本用量过大，需减少样本的使用量。一般是将不多于 200 μl 的鸟类血液加生理盐水稀释至 2ml。

核酸的检测分析（提取 1ml 和 2ml 全血基因组 DNA，1ml 洗脱，3uL 上样，1%琼脂糖凝胶电泳检测结果）

