

血清/血浆 DNA 提取

中量说明书

编号 组分	ZD-TG-68-10	ZD-TG-68-20	ZD-TG-68-40
中量离心柱	10 个/包×1	10 个/包×2	10 个/包×4
15 ml 离心管	10 个/包×1	10 个/包×2	10 个/包×4
溶液 GH	60ml/瓶×1	60ml/瓶×2	120ml/瓶×2
溶液 W1A	9ml/瓶×1	18ml/瓶×1	18ml/瓶×2
溶液 W2	12ml/瓶×1	24ml/瓶×1	24ml/瓶×2
溶液 TE	12ml/瓶×1	12ml/瓶×1	25ml/瓶×1
Proteinase K	10mg/管×1	10mg/管×2	10mg/管×4
说明书	1 份	1 份	1 份

【存储条件和有效期】

- Proteinase K (固体) 置于 2~8℃ 长期保存, 其余组分室温避光保存。如 Proteinase K 溶解后未立即用完, 应按每次使用量分装成小份后 -20℃ 保存备用。避免反复冻融造成酶活力下降。
- 保质期: 12 个月。

【产品性能】

产品在试剂配方中避免使用苯酚、氯仿等有毒有害化学物质, 对操作人员、实验环境无毒害影响。在产品独有的缓冲液体系下, DNA 从血液样本中快速释放, 吸附于高性能的固相基质, 洗脱后即可获得高纯度 DNA。产品操作快速简便、提取的核酸纯度高、得率高。

【使用说明】

● 样本要求

适用于从 2~10ml 新鲜血液样本或 1~5ml 妥善保存的血浆样品中提取游离 DNA。如需暂时保存样品, 可使用游离 DNA 专用血液采集管 (市面有售) 按其说明书操作, 也可按下面的操作步骤“1”离心分离得到样品中血浆, 将血浆冷冻 (-70℃) 保存备用。

● 使用前准备

※ 阅读说明书, 熟悉操作步骤。

需自备的试剂: 无水乙醇、异丙醇、纯水、合适规格的离心管。

盒中的 15ml 离心管专用于收集最后一步的 DNA 洗脱液。

※ 首次使用前, 分别向溶液 W1A 和 W2 瓶中按标签要求加入无水乙醇, 摇匀后标记备用。

每管 Proteinase K 首次使用前加入 550μl 纯水完全溶解。

※ 离心均室温进行。

● 操作步骤

1、样品处理:

1.1 血液: 将 2~10ml 新鲜血液移入 15ml 离心管中, 800×g 离心 10min。将血浆移入新的 15ml 离心管中, 1600×g 离心 10min。至步骤“2”。

1.2 血浆: 将 1~5ml 血浆 (冷冻血浆需完全融化) 移入 15ml 离心管中, 1600×g 离心 10min。至步骤“2”。

2、取新的 15ml 离心管, 先加入 Proteinase K 20μl, 再加入 2ml 离心后上层血浆, 然后加入 2ml 溶液 GH, 漩涡混匀 15sec。37℃ 温育 10min。加入 2ml 异丙醇, 充分混匀。

注 1: 血浆离心后如液面上漂浮一层不溶物, 移取血浆时应尽量避免吸入。

注 2: 按照顺序加入各试剂, 不可将 Proteinase K 直接加入溶液 GH 中。

注3: 一次可处理1~5ml血浆。处理多于5ml血浆时, 需另行购买Proteinase K 和溶液GH。处理多于2ml血浆时, 需要在步骤“3”中多次离心。血浆用量不为2ml时, 需根据血浆用量调整Proteinase K、溶液GH及异丙醇用量。每毫升血浆需加入10 μ l Proteinase K, 溶液GH和异丙醇用量等于血浆体积。例如处理4ml血浆, 需使用40 μ l Proteinase K、4ml溶液GH及4ml异丙醇。

- 3、将混匀后的液体移入套有收集管的中量离心柱中（如液体多于6ml时, 需分数次离心过柱, 每次6ml）。最高转速（6000 \times g 以上）离心3min。弃去收集管中废液, 将离心柱放回。
- 4、向离心柱中加入2.5ml溶液W1A, 最高转速（6000 \times g以上）离心5min。弃去收集管中废液, 将离心柱放回。
- 5、向离心柱中加入2.5ml溶液W2, 最高转速（6000 \times g以上）离心1min。弃去收集管中废液, 将离心柱放回。
- 6、重复步骤“5”一次。
- 7、向柱中加入2ml无水乙醇, 最高转速（6000 \times g以上）离心15min。将离心柱从收集管中小心取出（勿让离心柱碰到废液）, 放入新的15ml离心管中, 开盖放置15min。
注: 长的离心及开盖放置时间用来除去降低洗脱效率的残留乙醇。如果离心力低于6000 \times g, 可将离心柱在恒温箱中70 $^{\circ}$ C放置15min, 或延长室温放置时间至30min。最高转速（6000 \times g以上）离心5min。将离心柱取出后放入新的15ml离心管中。敞口静置5~10min。
- 8、向离心柱中加入溶液TE 300 μ l, 静置2~3min后, 最高转速（6000 \times g以上）离心5min。DNA溶液即被收集在离心管中。

注1) 为提高DNA得率, 可选择再向离心柱中央加入200 μ l溶液TE, 静置2~3min后离心收集两次的DNA溶液, 注意这会增大DNA溶液体积并降低

DNA浓度。

下附用溶液 TE 多次洗脱中量离心柱中 gDNA 的参数及效果（供参考。游离 DNA 片段远短于血 gDNA, 短片段 DNA 更容易从离心柱上洗脱）。

洗脱次数	离心速度	溶液 TE 体积	每次洗脱 DNA 所占百分比
第一次	4500 \times g 离心 2min	300 μ l	67%
第二次	4500 \times g 离心 2min	200 μ l	18%
第三次	4500 \times g 离心 2min	200 μ l	6%
第四次	4500 \times g 离心 2min	300 μ l	9%

注 2) 可选用纯水（自备）进行洗脱。纯水 pH 值不低于 7, 且 DNA 产物应于-20 $^{\circ}$ C 保存以防降解。

【注意事项】

- ※ 试剂如不慎溅到皮肤、粘膜时, 立即用大量清水冲洗干净。
- ※ 离心柱、离心管为一次性产品。
- ※ 仅用于科研使用。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页: <http://www.genepure.com>

电话: 4008780133