

UE 血基因组 DNA 大量制备试剂盒

本试剂盒采用独特的两相分离技术，结合 DNA 制备膜选择性地吸附 DNA 的方法达到纯化基因 DNA 的目的。适合从 5 ml 的抗凝人或哺乳动物全血，或 500 μl 抗凝鸟类或两栖动物全血中获得多至 250 μg 的基因组 DNA。

一、试剂盒组成、贮存、稳定性

Cat.No.	UE-MX-BL-GDNA-10	UE-MX-BL-GDNA-25
Kit size	10 preps	25 preps
Maxiprep column	10	25
Column adapter	10	25
Buffer VL	120 ml	300 ml
Buffer G-B	120 ml	300 ml
Buffer DV bottle (empty)	1	1
Buffer DV-A	6 ml	15 ml
Buffer BV	120 ml	300 ml
Buffer W1	180 ml	450 ml
Buffer W2 concentrate	2×36 ml	2×150 ml
Eluent	25 ml	60 ml
Protocol manual	1	1

Buffer VL: 细胞和病毒裂解液，室温密闭贮存。

Buffer G-B: 蛋白沉淀液，室温密闭贮存。

Buffer DV-A: Buffer DV 的制备液（请参照实验准备 Buffer DV 配制），室温密闭贮存。

Buffer DV: 相分离液，室温密闭贮存。

Buffer BV: DNA 结合液，室温密闭贮存。

Buffer W1: 洗涤液，室温密闭贮存。

Buffer W2 concentrate: 去盐液。使用前，按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇（可用 100%乙醇或 95%乙醇），混合均匀，室温密闭贮存。

Eluent: 2.5 mM Tris-HCl, pH 8.5, 室温密闭贮存。

二、注意事项

- 下列操作步骤适合从 5 ml 的抗凝人或哺乳动物全血，或 500 μl 抗凝鸟类或两栖动物全血中获得多至 250 μg 的基因组 DNA。
- Buffer VL, Buffer BV 和 Buffer W1 含刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套和眼镜，避免沾染皮肤、眼睛和衣服，谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛时，要立即用大量清水和生理盐水冲洗，必要时寻求医疗咨询。
- 在按照此说明书操作前，请确保已做好足够的对血传播病毒的防护工作，按照正确方法处理体液和感染体。
- 操作时严格按操作步骤进行，废物必须放入含消毒液的废物缸，并高压灭菌。

三、实验准备

- 第一次使用时，在 Buffer W2 concentrate 中按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
- 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
- 制备 Buffer DV: 按 2 ml Buffer DV-A, 125 ml 异丙醇, 75 ml 异丁醇的比例，加入提供的试剂瓶中，混合均匀。
- 4°C 预冷 Buffer DV。

四、操作步骤

【DNA 释放】

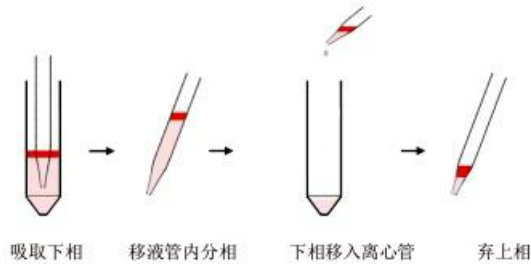
- 将 5 ml 抗凝全血置于一个 50 ml 离心管中，若全血样本体积不足 5 ml，用 PBS 补充至 5 ml。
- 加 10 ml Buffer VL，盖紧离心管帽，旋涡振荡 1 min。
- 加 10 ml Buffer G-B，再次盖紧离心管帽，立刻上下混匀。

【两相分离去除蛋白和其它杂质】

- 加 20 ml Buffer DV (4°C 预冷)，用力混合均匀。≥5,000×g 离心 5 min。
*请在实验前按照实验准备 3 制备 Buffer DV。
- 尽可能丢弃上相，保留相间沉淀和下相。加 20 ml 4°C 预冷 Buffer DV，用力混合，≥5,000×g 离心 5 min。

【基因组 DNA 的纯化】

- 丢弃上相，将下相转移至一新的 50 ml 离心管（自备）中。
*上相必须完全弃尽。



- 加 10 ml Buffer BV，混合均匀。
- 将连接管插到负压装置的插口上，再将大量制备管插到连接管上，将步骤 7 的混合液移到大量制备管中，开启并调节负压至 -20-30 英寸汞柱。
- 待步骤 8 管中液体都吸尽后，加 15 ml Buffer W1，吸尽管中液体，保持负压。
- 加 20 ml Buffer W2，吸尽管中液体，关闭负压装置。
*确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
- 将大量制备管从负压装置转移至另一洁净的 50 ml 离心管中，≥6,000×g 离心 5 min。
- 将大量制备管插回到负压装置顶部连接管的插口上，保持负压 5 min，吸尽残存的 Buffer W2。
- 将大量制备管置于另一洁净的 50 ml 离心管中，在大量制备管膜中央加 1.5 ml Eluent 或去离子水，室温静置 5 min，≥6,000×g 离心 5 min 洗脱基因组 DNA。
*将 Eluent 或去离子水加热至 65°C 将提高洗脱效率。
- 可选步骤：同样方法，在大量制备管膜中央加 0.75 ml Eluent 或去离子水，室温静置 1 min，≥6,000×g 离心 5 min 洗脱基因组 DNA。

五、流程图

加 5 ml 抗凝全血在 50 ml 离心管
加 10 ml Buffer VL, 漩涡振荡 1 min



DNA 释放

加 10 ml Buffer G-B.
加 20 ml 4°C 预冷的 Buffer DV,
≥5,000×g 离心 5 min
弃上相, 加 20 ml 4°C 预冷的 Buffer DV,
≥5,000×g 离心 5 min



分相

加 10 ml Buffer BV 在滤液中



加 15 ml Buffer W1
加 20 ml Buffer W2



结合
洗涤

加 1.5 ml Eluent 或去离子水
可选步骤：再加 0.75 ml Eluent 或去离子水



洗脱