

UE 血基因组 DNA 小量制备试剂盒

本试剂盒采用独特的细胞裂解和血红素/蛋白沉淀技术，结合 DNA 制备膜选择性地吸附 DNA 的方法达到纯化基因组 DNA 的目的。200-250 μ l 的抗凝全血中获得多至 12 μ g 的基因组 DNA。

一、试剂盒组成、贮存、稳定性

Cat.No.	UE-MN-BL-GDNA-10	UE-MN-BL-GDNA-50	UE-MN-BL-GDNA-250
Kit size	10 preps	50 preps	250 preps
Miniprep column	10	50	250
2 ml Microfuge tube	10	50	250
1.5 ml Microfuge tube	10	50	250
Buffer AP1	6 ml	30 ml	150 ml
Buffer AP2	2 ml	6 ml	30 ml
Buffer W1A concentrate	5 ml	24 ml	120 ml
Buffer W2 concentrate	5 ml	24 ml	2 $\times$ 72 ml
Buffer TE	3 ml	11 ml	60 ml
Protocol manual	1	1	1

Buffer AP1：细胞裂解液，室温密闭贮存。

Buffer AP2：蛋白沉淀液，室温密闭贮存。

Buffer W1A concentrate：洗涤液。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。

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。

Buffer TE：5 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.5。室温密闭贮存。

二、注意事项

- 如果从鸟类、两栖类或更低级的动物中提取基因组 DNA，因其血液中红细胞有核，血液用量勿超过 10 μ l，并加 PBS 溶液将血样体积稀释到 250 μ l 后再按正常步骤操作。
- 制备管可结合多至 25 μ g 的基因组 DNA。若需更多的基因组 DNA，可用 0.5 ml 血来提取基因组 DNA。将 0.5 ml 血样分成两管，每管 250 μ l，按步骤 1 至 4 制备提取。将步骤 4 所得到的上清混合，加到同一个制备管中结合基因组 DNA，最后用 100-200 μ l 的 Buffer TE 洗脱基因组 DNA。
- Buffer AP1 和 Buffer W1A 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。
- 为了保持基因组 DNA 的性能的完整性以及 PCR 扩增的特异性，纯化的基因组 DNA 应用含有 0.1 mM EDTA 的低盐浓度的 Tris 缓冲液洗脱和贮存。

三、实验准备

- 第一次使用时，在 Buffer W2 concentrate 和 Buffer W1A 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。

四、操作步骤

- 加 500 μ l Buffer AP1 到 1.5 ml 离心管中。
- 加 200-250 μ l 抗凝全血到 Buffer AP1 中，用移液器来回吸注几次，以彻底溶解残留在吸头上的血液。盖紧离心管盖子，旋涡振荡 10 s。
*必须充分混合或旋涡振荡以确保完全释放基因组 DNA。
*若从凝固的血或干粉中提取基因组 DNA，在研钵中收集凝固的血或干粉，加入 200 μ l 含 20 mM Tris, 10 mM EDTA, (pH 8.5) 的缓冲液，快速研磨 30 s。加 500 μ l Buffer AP1，研磨充分后收集溶解产物到 1.5 ml 离心管中，50°C 加热 1 min。旋涡振荡溶解可能存在的血块，在冰浴中冷却后进入步骤 3 的操作。

- 加 100 μ l Buffer AP2，旋涡振荡 10 s。
- 12,000 $\times$ g 离心 10 min。
- 将制备管置于 2 ml 离心管（试剂盒内提供）中，将步骤 4 中的滤液加入到制备管中，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
*如在制备管中仍残留溶液，适当升高离心速度，再离心一次，使所有溶液过滤到 2 ml 离心管中。
- 弃滤液，将制备管置回到原 2 ml 离心管中，加 700 μ l Buffer W1A，室温放置 2 min 12,000 $\times$ g 离心 30 s。
*确认在 Buffer W1A concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
*如在制备管中仍残留溶液，适当升高离心速度，再离心一次，使所有溶液过滤到 2 ml 离心管中。
- 弃滤液，将制备管置回到原 2 ml 离心管中，加 800 μ l 已加无水乙醇的 Buffer W2，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
*确认在 Buffer W2 concentrate 中已按试剂瓶上指定的体积加入无水乙醇。
- （可选步骤）将制备管置回到原 2 ml 离心管中，加 500 μ l Buffer W2 到制备管中，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
- 弃滤液，将制备管置回原 2 ml 离心管，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
- 将制备管置于另一洁净的 1.5 ml 离心管（试剂盒内提供）中，在制备管膜中央加 80-200 μ l Buffer TE，室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min 洗脱基因组 DNA。
*将 Buffer TE 预热到 65°C 将提高洗脱效率。

五、流程图

