

# 微量血液基因组提取试剂盒（柱式法） （BW-GD2321）

## 目录

产品组成 .....	2
产品简介 .....	2
保存条件 .....	2
实验前准备工作 .....	3
实验前需准备的材料 .....	3
安全信息 .....	3
实验步骤 .....	4
购买须知 .....	7

## 产品组成

Catalog#	BW-GD2321 -00	BW-GD2321 -01	BW- GD2321-02
Preps	4	50	250
DNA Micro Columns	4	50	250
2 mL Collection Tubes	4	50	250
Buffer BBL	2 mL	16 mL	80 mL
Buffer MKB	3 mL	35 mL	160 mL
DNA Wash Buffer*	2 mL	15 mL	35 mL x 2
Proteinase K	100 $\mu$ L	1100 $\mu$ L	1.3 mL x 4
RNase A (20 mg/mL)	10 $\mu$ L	110 $\mu$ L	510 $\mu$ L
Elution Buffer	100 $\mu$ L	1 mL	5 mL
User Manual	1	1	1

\*DNA Wash Buffer: 使用前请将 8 mL (BW-GD2321-00)或 60 mL (BW-GD2321-01)或 140 mL (BW-GD2321-02)

96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。

## 产品简介

微量血液基因组 DNA 试剂盒适用于从 25-100  $\mu$ L 新鲜、冷冻或加入抗凝血剂的血液中快速，简便的纯化基因组 DNA，采用先进的膜吸附原理特异吸附核酸，提取的基因组 DNA。本试剂盒还可从白细胞层、唾液、口腔拭子以及其他体液中提取基因组 DNA。所得 DNA 可用于 PCR、Southern 杂交、酶切等分子生物学实验。离心柱吸附基因组 DNA 的容量为 10  $\mu$ g，建议一次处理少于 100  $\mu$ L 全血。

## 保存条件

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。Proteinase K 和 RNase A 可在室温下（15-25 $^{\circ}$ C）储存一年。长期储存：请分装 Proteinase K 并储存于-20 $^{\circ}$ C，RNase A 于 4 $^{\circ}$ C 储存。其余试剂及用品可保存于室温（15-25 $^{\circ}$ C）。

## 实验前准备工作

通过检查本用户手册，准备好所有组件和所有必要的材料，熟悉每一步，并特别注意以下几点。

- RNase A: 使用前将提供的所有 RNase A 瞬时离心。
- Buffer BBL 可能在储存过程中形成结晶，使用之前于 50°C 溶解沉淀。
- DNA Wash Buffer: 使用前请加入瓶身相应的 96-100%乙醇至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。
- 确保离心机转速可达到 12000 rpm。
- 在室温下（15-25°C）进行所有离心操作。

## 实验前需准备的材料

- 异丙醇
- 无水乙醇
- PBS/生理盐水/Elution Buffer
- 水浴锅
- 高速离心机
- 1.5 mL 无菌离心管

## 安全信息

Buffer BBL为离液盐，当与漂白剂作用时会发生化学反应，勿直接加入漂白剂及酸溶液，使用时请戴上手套并保护眼睛。

## 实验步骤

### 1. 样本类型

#### 体液样本

将样本(< 100  $\mu\text{L}$ )转移至1.5 mL离心管，加入20  $\mu\text{L}$  **Proteinase K**和样本3倍体积的**Buffer BBL**，最大速度涡漩10秒以混匀。（若要求无RNA污染，每个样品中加入2  $\mu\text{L}$  **RNase A**）。

注：Buffer BBL使用之前于50°C溶解沉淀。

#### 干血点样本

取3块3x3mm的样本至1.5ml管中，加入100ul PBS/Elution Buffer，加入10  $\mu\text{L}$  **Proteinase K**和样本1倍体积的**Buffer BBL**，最大速度涡漩10秒以混匀。（若要求无RNA污染，每个样品中加入2  $\mu\text{L}$  **RNase A**）。

2. 55°C温浴20-30 min左右，期间涡漩2-3次。

3. 待裂解液冷却至室温，加入Buffer BBL等体积的异丙醇，充分颠倒混匀，瞬时离心收集管盖上的液体。

注：纯化鸟类（如：鸡）血液基因组DNA时，将样品量降至2-10  $\mu\text{L}$ ，使用PBS补足体积至100  $\mu\text{L}$ ，加入20  $\mu\text{L}$  **Proteinase K**和300  $\mu\text{L}$  **Buffer BBL**，枪头吹打混匀。若要求无RNA污染，每个样品中加入2  $\mu\text{L}$  **RNase A**。55°C温浴30 min左右，期间涡漩2-3次，并用枪头进行吹打混匀。加入300  $\mu\text{L}$ 异丙醇，充分颠倒混匀，瞬时离心收集管盖上的液体。

4. 将一个**DNA Micro Column**插入2 mL **Collection Tube** 收集管中，将样品液加入**DNA Micro Column**中，8,000 rpm转离心1 min，倒掉废液，将**DNA Micro Column**重新插入收集管中。

5. 向**DNA Micro Column**中加入600  $\mu\text{L}$  **Buffer MKB**，8,000 rpm离心1 min，弃废液。将**DNA Micro Column**重新放入收集管中。

6. 加入600  $\mu\text{L}$  **DNA Wash Buffer**（确保已加入乙醇），8,000rpm离心1 min，倒掉废液，将**DNA Micro Column**重新插入收集管中。重复此步骤。

7. 12,000 rpm 开盖离心2 min。

注：开盖离心有助于去除残留乙醇，乙醇的有效去除保证DNA的洗脱。

8. 将 **DNA Micro Column** 插入 1.5 mL 离心管，向 **DNA Micro Column** 中间加入 5-15  $\mu\text{L}$  **Elution Buffer**(65°C 预热)，室温静置 5 min，12000 rpm 离心 2 min，将溶液收集离心管中。

可选：将洗脱下来的DNA重新上柱进行二次洗脱。

注：DNA产物应保存在-20°C，以防其降解。

常见问题解答

问题	可能原因	建议
柱子堵塞/脱膜	裂解不完全	适当增加的 Buffer BBL，65°C 孵育一定时间。延长孵育时间 10 min。
	样品太多	若样品超过 100 μL 血液，增加 Proteinase K 和 Buffer BBL 使用量。依次将裂解液通过吸附柱。或选择其他处理量的试剂盒例如：BW-GD2311
	样品太粘稠	将样品分成多管。
低 DNA 得率	柱子堵塞	参考上述建议。
	洗脱效率低	进行二次洗脱，或增加洗脱体积。加入洗脱液后于 65°C 孵育 5 min。
	漂洗不当	使用前按瓶身要求在 DNA Wash Buffer 内加入无水乙醇。
低的 A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> 值	加入 Buffer BBL 后没有充分混匀导致裂解不充分	重复此步骤，确保加入 Buffer BBL 后涡旋混匀。
	血红蛋白留在柱子上	样品上柱后，用 Buffer BBL 洗涤一次。
没有洗脱下来 DNA	加入 Buffer BBL 没有加入异丙醇	上柱前，需要加入 Buffer BBL/异丙醇混合液。
	DNA Wash Buffer 内没有加入无水乙醇	使用前按照要求加入乙醇至 DNA Wash Buffer 内
	细胞裂解不充分由于没有充分混匀 Buffer BBL	Buffer BBL 是粘稠的，样品必须充分混匀。
洗涤后在柱子膜留下有色残渣	DNA Wash Buffer 内没有加入无水乙醇	使用前按照要求加入乙醇至 DNA Wash Buffer 内。
	样品量太大	减少样品量，按照操作步骤进行。

## 购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电与我们联系，或访问我们的网站



全国服务热线: [400-115-2855](tel:400-115-2855)

技术邮箱: [tech@beiwobiomedical.com](mailto:tech@beiwobiomedical.com)

市场邮箱: [market@beiwobiomedical.com](mailto:market@beiwobiomedical.com)

倍沃官网: [www.beiwobiomedical.com](http://www.beiwobiomedical.com)