

MolPure[®] Blood DNA Kit 血液 DNA 提取试剂盒

产品信息

产品名称	产品货号	规格
MolPure [®] Blood DNA Kit 血液 DNA 提取试剂盒	18730ES08	5 T
MolPure [®] Blood DNA Kit 血液 DNA 提取试剂盒	18730ES50	50 T
MolPure [®] Blood DNA Kit 血液 DNA 提取试剂盒	18730ES70	200 T

产品描述

MolPure[®] Blood DNA Kit 适用于哺乳动物、禽类、鸟类、两栖类等血液样品中 DNA 的提取。离心吸附柱中采用的硅基材料为本公司特有新型材料，配合本公司独特的裂解液配方可以最大限度的回收高纯度 DNA。提取的 DNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种下游应用实验，如 PCR、分子克隆和酶切反应等。

试剂盒组分

类别	编号	组分名称	18730ES08 (5 T)	18730ES50 (50 T)	18730ES70 (200 T)
Part I	18730-A	Proteinase K (20 mg/mL)	100 µL	1 mL	1 mL×4
Part II	18730-B	DNA 吸附柱 B2 (MolPure [®] DNA Column B2)	5 个	50 个	200 个
	18730-C	2 mL 收集管 (2 mL Collection Tube B2)	5 个	50 个	200 个
	18730-D	缓冲液 AC (AC Buffer B2)	500 µL	5 mL	20 mL
	18730-E	缓冲液 DB (DB Buffer B2)	1 mL	10 mL	40 mL
	18730-F	结合液 BD (BD Buffer B2)	1.5 mL	15 mL	60 mL
	18730-G	去蛋白液 PL (PL Buffer B2)	2.5 mL	25 mL	100 mL
	18730-H	漂洗液 W* (Wash Buffer*)	1.5 mL	13 mL	50 mL
	18730-I	洗脱液 (Elution Buffer)	1 mL	10 mL	20 mL

运输与保存方法

Part I 组分常温运输，4°C 避光保存，有效期 12 个月。

Part II 组分常温运输，常温保存，有效期 12 个月。

注意事项

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. 注意观察各溶液是否有析出或浑浊（尤其冬季等室温为低温环境时），可 37°C 温浴复溶至溶液澄清，避免影响使用效果。
3. 去蛋白液 PL 含有刺激性物质，为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。

实验前准备

1. 自备设备和试剂：台式离心机、振荡仪、水浴锅或金属浴，异丙醇，离心管等。
2. 除特殊指明外，所有的离心步骤均在室温完成，使用可以达到 12,000 rpm 转速的传统台式离心机。
3. 首次使用前，在漂洗液 W* (18730-H) 瓶中加入 4 倍体积的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。如果发现漂洗液 W* 由于运输或保管不当造成容量严重不准，请用量筒定容后再加入 4 倍体积的无水乙醇。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持漂洗液 W* 中的乙醇含量。

操作方法

一、样本预处理：

1. 取 200 μL 新鲜、冷冻或抗凝血液转移至 1.5 mL 的离心管中。
注：不足 200 μL 时，需用**缓冲液 DB** 补足。亦可用 PBS 或生理盐水代替缓冲液 DB。
注：处理量 200-300 μL 时，需按比例调整后续步骤试剂用量。
注：处理量 300 μL -1 mL 时，需用红细胞裂解液处理。
注：针对鸟类、禽类等含有核红细胞，建议血液处理量 5 μL -20 μL ，并用**缓冲液 DB** 补足 200 μL 。
注：建议使用新鲜血液或者 4 $^{\circ}\text{C}$ 存放少于 3 天的标本，避免使用冻融超过 3 次的标本，否则会严重降低产量。
2. 加入 20 μL **Proteinase K (20 mg/mL)**，充分混匀。
3. (选做) 若残留 RNA 对后续实验有影响，可加入 5 μL **RNase A (100 mg/mL)** (自备，产品货号：10406ES) 溶液，振荡混匀，室温放置 5-10 min。
4. 加入 200 μL **结合液 BD**，立刻振荡混匀，瞬离收集管壁液体。
5. 70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴或金属浴 10 min。
6. 待冷却后，加入 100 μL 异丙醇 (自备)，剧烈振荡 15 sec 混匀。
注：可能会形成絮状沉淀，属于正常现象。

二、DNA 提取：

1. 将 DNA 吸附柱 B2 套入 2 mL 收集管中，备用。
2. 加入 100 μL **缓冲液 AC** 至 DNA 吸附柱 B2 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。
3. 将预处理混合液加入到 DNA 吸附柱 B2 中，12,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。
4. 加入 500 μL **去蛋白液 PL**，12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液。
5. 将 DNA 吸附柱 B2 放回收集管，加入 600 μL **漂洗液 W***，12,000 rpm 室温离心 30 sec，弃废液。
注：确保漂洗液 W* 已添加无水乙醇。
6. 重复一遍步骤 5。
7. 将 DNA 吸附柱 B2 放回收集管，空柱 12,000 rpm 室温离心 2 min，以除去残留的漂洗液 W*。
8. 将 DNA 吸附柱 B2 放入新的 1.5 mL 离心管中，在吸附柱中央加入 50-100 μL **洗脱液**，室温放置 2 min。然后 12,000 rpm 离心 1 min。收集滤液，即为 DNA 溶液。
注：可通过以下方式提高回收产量：①70 $^{\circ}\text{C}$ 预热洗脱液；②将 DNA 滤液再次上柱，室温放置 2 min 后，洗脱。
注：不同样品尤其疾病样品中白细胞数量差异可能非常大，因此产量的个体差异也可能非常大。
9. DNA 溶液可置于 -80 $^{\circ}\text{C}$ 长期保存。

附：红细胞裂解操作

1. 取 3 mL 红细胞裂解液 (自备，产品货号：40401ES) 转移至 15 mL 的离心管中。
注：建议用非肝素类的抗凝剂收集血液样本。
2. 加入 1 mL 回温至常温的抗凝全血，颠倒 6-8 次，并倒置轻弹管壁，确保充分混匀。
3. 室温放置 5-10 min。每隔 2-3 分钟颠倒混匀数次，帮助裂解红细胞。
4. 3,000 rpm 室温离心 5 min，小心弃上清。
注：彻底裂解后的红细胞在管底应为白色的细胞团。若裂解不充分，可重复步骤 3 和 4。
5. 加入 200 μL **缓冲液 DB** 涡旋振荡重悬白细胞团，充分分散白细胞团。
6. 按照**样本预处理步骤**和**DNA 提取步骤**进行 DNA 提取。