

M5 FTAcad DNA Kit 血片基因组 DNA 提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 FTAcad DNA Kit	50T	MF067-01

【储存条件】

室温保存

【试剂盒组分】

	MF067-01
Buffer GTL	15ml
Buffer GC	15ml
Buffer GW1 (concentrate)	13ml
Buffer PW2 (concentrate)	18ml
Buffer GE	15ml
Proteinase K	25mg
Proteinase K Storage Buffer	1.25ml
Spin Columns DC with Collection Tubes	50

【产品简介】

本试剂盒提供了一种快速、简单、高效的从血片中提取基因组DNA的方法。既适用于未加抗凝剂的血液，也可用于加入EDTA、柠檬酸盐、肝素等抗凝剂的血液样本。样品裂解后，DNA被选择性的吸附到硅基质膜上。两步漂洗后，高质量的DNA被溶解到洗脱液中。纯化得到的DNA无酶抑制剂和其他杂质的残留。DNA最长可达50 kb，适用于PCR，Real-time PCR、Southern blotting等实验。

【自备试剂】

无水乙醇

【实验前准备及注意事项】

1. 向Proteinase K中加入1.25 ml Proteinase K Storage Buffer使其溶解，-20°C保存。配制好的Proteinase K勿长时间室温放置，避免反复冻融，避免反复冻融，以免影响其活性。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在Buffer GW1和Buffer PW2中加入无水乙醇，混合均匀，并在试剂瓶标签上做好标记。
3. 使用前请检查Buffer GTL和Buffer GC是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer GC和Buffer GTL于56°C水浴重新溶解
4. 将一个水浴锅预热至56°C，另一个水浴锅预热至70°C。
5. 可将洗脱缓冲液 Buffer GE 预热至 70°C。

【操作步骤】

1. 向1.5 ml离心管中加入**20 µl Proteinase K溶液**，然后再加入**180 µl Buffer GTL**。

注意：若样品数量较多，Proteinase K和Buffer GTL可按比例混合，然后将200 µl混合物加入到1.5ml的离心管中。

2. 将取下的干血片放入上一步中的离心管中，剧烈涡旋混匀并短暂离心。56°C孵育30-60分钟，期间每隔10分钟将离心管涡旋10秒。
3. 加入200 μ l Buffer GC，彻底涡旋混匀。短暂离心后，70°C孵育10分钟，期间每隔3分钟将离心管涡旋10秒。

注意：加入Buffer GC后可能会产生白色沉淀，大部分情况下，在孵育过程中，沉淀会消失，沉淀不会影响后续的实验。

4. 待步骤3离心管中样品降为室温后加入100 μ l无水乙醇，轻轻颠倒混匀样品，室温放置5分钟。短暂离心，将管壁内壁的液体富集于离心管底。

注意：1) 需要将样品和乙醇混合均匀。
2) 当室温高于25°C时，需要先将乙醇预冷。

5. 将上一步所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱(Spin Columns DC)中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心1分钟。倒掉收集管中的废液，将Spin Column DC放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入500 μ l Buffer GW1 (使用前检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm离心1分钟。倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入500 μ l Buffer PW2 (使用前检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
8. 重复步骤7。
9. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉废液，将吸附柱置于室温放置2-5分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的乙醇。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR等）。

10. 将吸附柱置于一个无菌的1.5 ml离心管中，向吸附柱的中间部位悬空加入20-100 μ l Buffer GE，室温放置2-5分钟。12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20°C保存DNA。

注意：1) 如果下游实验对pH值或EDTA敏感，可以用去离子水洗脱。洗脱液的pH值对洗脱效率有很大影响，若用去离子水做洗脱液应该保证其pH值在7.0-8.5（可以用NaOH将水的pH值调到此范围），pH值低于7.0时会降低洗脱效率。

2) 离心前室温孵育5分钟可以增加产量；用另外的20-200 μ l Buffer GE再次洗脱可以增加产量。

3) 如果要提高DNA的终浓度，可以将步骤10所得的DNA洗脱液重新加至吸附膜上，室温放置5 min后再次离心；若洗脱体积小于20 μ l，可以增加DNA的终浓度，但可能会减少总产量。如果DNA的量小于1 μ g，推荐用50 μ l Buffer GE或去离子水洗脱。

4) 因为保存在水中的DNA会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用Buffer GE洗脱并于-20°C保存。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。