

GF-1 血液 DNA 提取试剂盒说明书

版本 3.1

产品简介:

GF-1 血液 DNA 提取试剂盒是专为从最多 400ml 全血中快速、高效提取纯化基因组 DNA 的试剂盒。本试剂盒采用一个经特殊处理的玻璃纤维滤膜固定到柱子中，在高盐下有效地结合 DNA。试剂盒应用核酸纯化柱技术，使用最佳缓冲液，以确保只有 DNA 被分离，在随后的洗涤步骤中除去细胞蛋白，代谢物，盐和其他低分子量杂质。高纯度的基因组 DNA 在水或低盐缓冲液中被洗脱，其 A260/280 比值 1.7-1.9，用于许多常规分子生物学实验，如酶切，PCR，Southern 印迹杂交，DNA 指纹分析和其他操作。

试剂盒组成成份

	5 次	25 次	100 次	200 次
产品目录号	样品	CN/GF-BD-025	CN/GF-BD-100	CN/GF-BD-200
组份				
GF-1 亲和柱(GF-1 columns)	5	25	100	200
收集管 (Collection tubes)	5	25	100	200
血液裂解液 (缓冲液 BB)	1.5ml	6ml	24ml	48ml
Blood Lysis Buffer (Buffer BB)				
洗涤液 1 (浓缩液) *	1.5ml	7ml	30ml	2 x 30ml
WashBuffer1(concentrate)*				
洗涤液 2 (浓缩液) *	2.4ml	9ml	34ml	2 x 34ml
WashBuffer2(concentrate)*				
洗脱液 (Elution Buffer)	1.5ml	5ml	20ml	40ml
蛋白酶 K* (Proteinase K*)	0.11ml	0.55ml	2 x 1.05ml	4 x 1.05ml
使用说明 (Handbook)	1	1	1	1

注意：标*的请参照配制方案以及其储存条件和稳定性。

GF-1 血液 DNA 提取试剂盒有 25 次、100 次、200 次包装。本试剂盒仅供研究使用。

自备材料

无水乙醇 (>95%)

RNA 酶 A (无 DNA 酶) (20mg/ml)

配制方案

贴有洗涤液 1 和洗涤液 2 标签的浓缩液，在使用前需用无水乙醇 (>95%) 稀释。

样品 (5 次)

在洗涤液 1 中加入 1.5ml 无水乙醇。

在洗涤液 2 中加入 5.6ml 无水乙醇。

CN/GF-BD-025 (25 次)

在洗涤液 1 中加入 7ml 无水乙醇。

在洗涤液 2 中加入 21ml 无水乙醇。

CN/GF-BD-100 (100 次)

在洗涤液 1 中加入 30ml 无水乙醇。

在洗涤液 2 中加入 80ml 无水乙醇。

CN/GF-BD-200 (200 次)

在洗涤液 1 中加入 30ml 无水乙醇。使用完后再以同样的方法稀释第二瓶洗涤液 1。

在洗涤液 2 中加入 80ml 无水乙醇。使用完后再以同样的方法稀释第二瓶洗涤液 2。

洗涤液使用后拧紧瓶盖，室温保存。

储存及稳定性

● 溶液 20°C-30°C 保存。

● 蛋白酶 K -20°C 保存。

● 试剂盒各组份自生产之日起可稳定保存 12 个月。缓冲液 BB 在室温过低时易出现结晶，使用前请置于 55°C-65°C 环境中至晶体完全溶解。

化学危害

缓冲液 BB 和洗涤液 1 含有胍盐，当接触皮肤或吞服时可能造成危害。使用时一定要戴上手套并做好安全防护措施。不能将含有漂白剂或任何形式的酸性溶液加入到含有胍盐的提取废料中进行消毒。清洁沾染试剂的物品，不需要用漂白剂和酸性溶液清洗，只需浸泡在洗涤剂和水里即可除去胍盐。

操作步骤

提示

- 所有操作均在室温下进行，除非另有说明。
- 洗涤液 1 和洗涤液 2 的浓缩液在使用前务必用无水乙醇稀释，请参照配制方案。
- 如果缓冲液 BB 出现沉淀或结晶，请置于 55°C-65°C 环境中至晶体完全溶解。
- 预先设定 65°C 水浴锅。
- 65°C 预热洗脱液 (可选)。

1、血液裂解

取一个干净的微量离心管，加入 200µl 血液样本，在样本中加入 200µl 缓冲液 BB，脉冲漩涡振荡充分混匀，加入 20µl 蛋白酶 K 并立即混匀。65°C 温育 10 分钟。

注：确保在加入蛋白酶 K 前缓冲液 BB 和血液样本已混合均匀。血液样本白细胞数量不尽相同，取决于供体。处理过多的细胞可能导致柱子超载，因此，确保样本中的白细胞数量不超过 5×10^6 个，故推荐用户使用小于 400µl 的样本。如果样本体积大于 200µl，按照比例调整缓冲液 BB 和蛋白酶 K 的体积。

RNA 的去除 (可选)

如果要求 DNA 中无 RNA 污染，则加入 20µl RNA 酶 A (无 DNA 酶，20mg/ml)，混匀，37°C 温育 10 分钟。

2、加入乙醇

加入 200µl 无水乙醇，立即充分混匀以获得一份清亮均匀的溶液。

注：立即混匀以防止因局部高浓度乙醇引起的任何不均匀核酸沉淀。

3、装载至亲和柱

转移样品至一带有干净收集管的亲和柱中，5,000 x g (8,000 rpm) 离心 1 分钟，丢弃废液。

4、柱子洗涤 1

在亲和柱中加入 500µl 洗涤液 1，5,000 x g (8,000 rpm) 离心 1 分钟，丢弃废液。

注：使用前确保洗涤液 1 已用无水乙醇稀释（参照配制方案）。

5、柱子洗涤 2

在亲和柱中加入 500 µl 洗涤液 2, 5,000 x g (8,000 rpm) 离心 1 分钟, 丢弃废液。重复洗涤一次, 以最大转速离心 3 分钟。

注：使用前确保洗涤液 2 已用无水乙醇稀释（参照配制方案）。

确保离心 3 分钟后能完全去除乙醇。

6、DNA洗脱

将亲和柱放入一干净的微量离心管中, 取 100 µl 预热洗脱液, TE 缓冲液或无菌水直接加入到柱子的膜中央, 室温静置 2 分钟, 5,000 x g (8,000 rpm) 离心 1 分钟, 以洗脱 DNA。DNA 4℃ 或 -20℃ 保存。

注：确保洗脱液被直接加入到膜中央以完全洗脱 DNA。TE 缓冲液中的 EDTA 可能抑制后续的酶反应, 但仍可洗脱 DNA。如果用水洗脱 DNA, PH7.0-8.5 时洗脱效果最好。当没有缓冲剂存在的情况下, DNA 可能降解, 此时 DNA -20℃ 保存。

故障排除

不按照给定的说明进行操作将会出现不符合标准的结果, 将影响 DNA 的得率和质量, 如果出现此类问题, 请参照以下内容处理:

问题	可能的原因	建议
DNA 得率低	血液样本没有正确保存	血液样本分装保存, 以避免反复冻融。
	血液样本裂解不完全	在加入蛋白酶K之前确保缓冲液BB和血液样本已漩涡振荡混匀。
		确保蛋白酶K和缓冲液BB、血液样本已混合均匀。
	未加入乙醇	使用新样本重新提取。
	柱子堵塞	请参照“血液样本裂解不完全”的建议进行处理。
		确保柱子已用洗涤液 1 洗涤。
	蛋白酶K活性降低	确保蛋白酶 K-20℃ 保存。
	洗涤 1 和洗涤 2 使用顺序颠倒	确保洗涤 1 步骤在洗涤 2 步骤之前。使用新样本重新提取。
	洗涤液 1 和洗涤液 2 配制错误	请参照“配制方案”。使用新样本重新提取。
	加入洗脱液之前柱子不干	加入洗涤液 2 以后, 确保柱子在最大速度下甩干 3 分钟。
没有正确使用洗脱液	65°C- 70°C预热洗脱液。	
	加入洗脱液后柱子室温静置 2 分钟。	
	确保所用洗脱液为低盐缓冲液或pH值 7.0-8.5 的水。	
纯度低 (A _{260/280})	血液样本裂解不完全	参照问题“DNA得率低”。
	蛋白酶 K 活性降低	参照问题“DNA得率低”。

问题	可能的原因	建议
纯度低 (A _{260/280})	未使用洗涤液 1 洗涤	加入洗涤液 2 之前确保已用洗涤液 1 洗涤。
DNA 降解或污染	血液样本裂解不完全	参照问题“DNA得率低”。
	血液样本没有正确保存	参照问题“DNA得率低”。
洗脱的DNA在下游应用中性能差	洗脱下来的 DNA 含有残留乙醇	洗涤液 2 重复洗涤一次结束, 以最大转速离心柱子 3 分钟。
	用 TE 缓冲液洗脱 DNA, TE 缓冲液中的 EDTA 可能抑制后续酶反应	用洗脱液或 pH 为 7.0-8.5 的水洗脱 DNA。

上海凯斯泰尔生物科技有限公司

地址: 上海市浦东新区康新公路 3377 号 2 号楼 604 室

电话: 021-68060114

传真: 021-68060114

邮箱: info@kestrel-china.com

网址: www.kestrel-china.com

Vivantis Technologies Sdn Bhd

1012 S.Coast Highway Suite 1,Oceanside CA 92054, USA.

Tel: +6 03 8025 1603

Fax: +6 03 8025 1637

Email: info@vivantechnologies.com

international@vivantechnologies.com

Web: www.vivantechnologies.com