

## A&DNext 全血 DNA 小量试剂盒说明书

### 产品组成

| A&DNext 全血 DNA 小量试剂盒<br>Cat. No. | 5 次样品<br>A-3001005 | 50 次制备<br>A-3001050 | 250 次制备<br>A-3001250 |
|----------------------------------|--------------------|---------------------|----------------------|
| 核酸纯化柱                            | 5 个                | 50 个                | 250 个                |
| 2 ml 离心管                         | 5 个                | 50 个                | 250 个                |
| Buffer L1                        | 2 ml               | 16 ml               | 80 ml                |
| Buffer L2                        | 2 ml               | 16 ml               | 80 ml                |
| Buffer WA（浓缩液）                   | 1.9 ml             | 12 ml               | 56 ml                |
| Buffer WB（浓缩液）                   | 1.5 ml             | 9.5 ml              | 50 ml                |
| Buffer TE                        | 1.2 ml             | 12 ml               | 60 ml                |
| 说明书                              | 1 份                | 1 份                 | 1 份                  |

### 产品储存与有效期

产品如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

### 技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: [tech@aderr.com](mailto:tech@aderr.com) 电话：010-57225208。

### 产品介绍

本产品可在 15—20 分钟内从 200—400  $\mu$ l 新鲜的或者是冷冻贮藏的人或动物全血中快速分离纯化基因组 DNA。产品不使用蛋白酶 K，裂解液 Buffer L1 溶解全血后，经 Buffer L2 沉淀去除血红蛋白，上清中的基因组 DNA 可结合到纯化柱上，经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤去除残留在膜上的蛋白与 PCR 抑制物后，基因组 DNA 用 Buffer TE 洗脱，并可立即用于各种分子生物学实验。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5ml 离心管
3. 移液器吸头（为避免样品间的污染，建议选用含有滤芯的移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 水浴锅和旋涡振荡器
7. 可能需要使用生理盐水

### 使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 将 Buffer TE 在 56℃ 温育。
- 3) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

## 操作步骤

本操作步骤是为从400  $\mu$ l全血中提取DNA而设计，如果血液体积小于400  $\mu$ l但大于200  $\mu$ l，可按比例减少Buffer L1和Buffer L2的用量(注意必须严格按Buffer L1：抗凝全血：Buffer L2=3:4:3的体积比进行操作，否则将导致后续步骤不能进行)，其他试剂用量不变；如果血液体积小于200  $\mu$ l，建议在血液补充生理盐水使血液体积至少至200  $\mu$ l。

**1. 加300  $\mu$ l Buffer L1到1.5 ml离心管中。**

**2. 加入400  $\mu$ l抗凝全血，盖上管盖，旋涡振荡30秒。**

\* 不可加少于400  $\mu$ l体积的抗凝全血。如果血液体积不足400  $\mu$ l，则补加生理盐水使血液体积达到400  $\mu$ l。

**3. 加入300  $\mu$ l Buffer L2，剧烈摇晃离心管3-5次，再旋涡振荡30秒混匀。**

\* 此步骤将出现大量血红蛋白沉淀。

**4. 13000 rpm 离心2分钟。**

**5. 将步骤4中的上清液倒入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于2ml 离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。**

\* 从某些动物血液中提取DNA，由于其血红蛋白较少，离心得到上清液的体积可能会大于纯化柱的容积，此时建议吸取700  $\mu$ l上清液到核酸纯化柱中，或者将上清液分两次进行本步骤的操作。

**6. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入500  $\mu$ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。**

\* 确认在Buffer WA中已经加入无水乙醇。

\* 纯化柱膜上如残留有血色素为正常现象，可被Buffer WA洗去。

\* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

**7. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入600  $\mu$ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。**

\* 确认在Buffer WB中已经加入无水乙醇。

**8. 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，14000 rpm 离心1分钟。**

\* 如果离心机的离心速度达不到14000 rpm，则用最高速离心2分钟。

\* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的PCR效果。

**9. 弃2ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的1.5 ml 离心管中，在纯化柱中加入100-200  $\mu$ l 56 $^{\circ}$ C温育的Buffer TE，盖上管盖，室温静置1分钟，12000 rpm 离心30秒。**

\* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为8000 rpm离心1分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

**10. 弃纯化柱，洗脱的DNA可立即用于各种分子生物学实验，或者将DNA储存于-20 $^{\circ}$ C备用。**