

A&DNext 血凝块 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

A&DNext 血凝块 DNA 纯化试剂盒	5 次样品	50 次制备
Cat. No.	A-4201005	A-4201050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml
Buffer SP	100 μ l	1 ml
Buffer AT	1.5 ml	15 ml
Buffer L1	1.8 ml	16 ml
Buffer L2	1.8 ml	16 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

1. 蛋白酶 K 贮存液和 Buffer SP 请于-20℃贮存。
2. 其他试剂与物品如果储存于室温（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（2~8℃储存的产品使用前应先产品恢复到室温后再使用）。

技术支持

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

产品介绍

本产品适合从 ≤ 200 mg 血凝块中分离纯化总 DNA。溶解的血凝块经 Buffer L2 沉淀血红蛋白，上清液中的 DNA 结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，纯化柱上的 DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤，用 Buffer TE 洗脱，即可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 离心管和移液器及吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
5. 水浴锅和旋涡振荡器

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. 将水浴锅温度设置到 56℃，并将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56℃。
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：

1. 用手术刀切取150~200 mg血凝块，再用刀尖将血凝块剁成匀浆状，转移血凝块到一个1.5 ml离心管中。

* 必须将血凝块剁成匀浆状，方能充分溶解血凝块。

* 勿使用超过200 mg血凝块，否则将超出蛋白酶K的消化能力。

2. 根据血凝块的体积（按1 mg = 1 μ l换算），补加Buffer AT至终体积为400 μ l。

* 比如重量为160 mg的血凝块中，应加入240 μ l Buffer AT。

3. 加入20 μ l蛋白酶K贮存液，再加入15 μ l Buffer SP，旋涡振荡约15秒混匀。

4. 将1.5 ml离心管置于56 $^{\circ}$ C水浴30分钟。

* 水浴期间每隔 5-10 分钟旋涡振荡数秒以帮助血凝块溶解。

5. 加入300 μ l Buffer L1，盖上管盖，旋涡振荡30秒。

6. 加入300 μ l Buffer L2，剧烈摇晃离心管3~5次，再旋涡振荡30秒混匀。

7. 13000 rpm 离心5分钟。

8. 吸取750 μ l上清液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于2ml 离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。

9. 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 μ 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。

* 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。

10. 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 μ 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。

11. 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，盖上管盖，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。

12. 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，在纯化柱的膜中央加入 100~200 μ 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。

11. 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。