

游离核酸DNA中量提取试剂盒

产品货号: BA3246

产品规格: 10T/50T

产品简介:

本产品适用于从新鲜或冷冻的血清、血浆、羊水、尿液等无细胞体液中提取游离DNA。本产品采用可以特异性结合核酸的吸附柱和独特的缓冲液系统,样品裂解后,游离DNA在高盐条件下与硅胶膜结合,在低盐、高pH值时游离DNA从硅胶膜上洗脱下来。本试剂盒使用负压法,同时配备延伸管,可处理多达5ml样本,纯化的DNA产量高、质量好,最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染。纯化得到的游离DNA质量稳定、可靠,可直接用于PCR、荧光定量PCR和二代测序等分子生物学实验。

产品内容:

组分名称	10T	50T	保存条件
Buffer CL	45mL	220mL	室温
Buffer CB (concentrate)	60mL	300mL	室温
Buffer GTL	12mL	60mL	室温
Buffer GW1 (concentrate)	3mL	13mL	室温
Buffer GW2 (concentrate)	3mL	15mL	室温
Buffer EB	2mL	10mL	室温
蛋白酶 K	100mg	3×180mg	2-8℃
Proteinase K Storage Buffer	5mL	30mL	室温
Spin Columns DG With Collection Tubes	10	50	2-8℃
Tube Extenders 20mL	10	50	室温
VacConnectors	10	50	室温
Centrifuge Tubes (L-1.5mL)	10	50	室温

操作步骤(仅供参考):

一: 血清、血浆样本(1-6mL)

1. 样品处理:

向离心管(自备)中加入1ml血清/血浆样本,若样本不足1ml,加入PBS溶液补至1ml体积。

注意:当样品量超过1ml时,请等比例增加Proteinase K、Buffer CL和Buffer CB试剂用量,具体试剂加入量可参考附表1。

2. 向以上溶液中加入100μl Proteinase K,混匀。

3. 加入800μl Buffer CL,颠倒混匀,剧烈震荡至少30秒。

4. 60℃孵育30分钟,其间颠倒混匀数次。

5. 加入1800μl Buffer CB(使用前检查是否加入异丙醇),颠倒混匀10次或剧烈震荡15-30秒。

6. 冰浴5分钟。

7. 正确连接负压装置,将连接管(VacConnectors)插到负压装置的插口上。

8. 将吸附柱(Spin Column DG)插入到连接管上。

9. 将延伸管(Tube Extenders)插入开盖的吸附柱中。注意:确保连接管、吸附柱和延伸管连接稳固,防止发



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

生漏液。

10. 将冰浴后的混合溶液全部加入延伸管中，开启并调节负压至-900--800mbar，缓慢吸走管中溶液。待溶液完全吸走，关闭负压开关，当压力恢复至0mbar时，小心移去延伸管。
11. 向吸附柱中加入500μl Buffer GW1(使用前检查是否加入无水乙醇)，开启并调节负压至-900--800mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。
12. 向吸附柱加入750μl Buffer GW2(使用前检查是否加入无水乙醇)，开启并调节负压至-900--800mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。
13. 向吸附柱中加入750μl无水乙醇，开启并调节负压至-900--800mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。
14. 当压力恢复至0mbar时，将吸附柱取下，置于新的收集管(Collection Tube)中，12000rpm离心3分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。
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。
15. 将吸附柱置于新的1.5ml离心管(Centrifuge Tube)中，向吸附柱的中间部位悬空加入20-150μl Buffer EB，室温放置3分钟，12000rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20℃保存DNA。

二：尿液样本(1-4mL)

1. 样品处理

向离心管(自备)中加入1ml尿液样本。若样本不足1ml，加入PBS溶液补至1ml体积。

注意：当样品量超过1ml时，请等比例增加Proteinase K、Buffer GTL、Buffer CL和Buffer CB试剂用量，具体试剂加入量可参考附表2。

2. 向以上溶液中加入125μl Proteinase K，混匀。
3. 加入1ml Buffer CL，250μl Buffer GTL，剧烈震荡至少30秒。
4. 60℃孵育30分钟，其间颠倒混匀数次。
5. 加入3.6ml Buffer CB(使用前检查是否加入异丙醇)，剧烈震荡15-30秒。
6. 冰浴5分钟。
7. 正确连接负压装置，将连接管(VacConnectors)插到负压装置的插口上。
8. 将吸附柱(SpinColumn DG)插入到连接管上。
9. 将延伸管(Tube Extenders)插入开盖的吸附柱中。
注意:确保连接管、吸附柱和延伸管连接稳固，防止发生漏液。
10. 将冰浴后的混匀溶液全部加入延伸管中，开启并调节负压至-900 - -800mbar，缓慢吸走管中溶液。待溶液完全吸走，关闭负压开关，当压力恢复至0mbar时，小心移去延伸管。
11. 向吸附柱中加入500μl Buffer GW1(使用前检查是否加入无水乙醇)，开启并调节负压至-900--800mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。
12. 向吸附柱中加入750μl Buffer GW2(使用前检查是否加入无水乙醇)，开启并调节负压至-900--800mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。
13. 向吸附柱中加入750μl无水乙醇，开启并调节负压至-900--800mbar，待溶液完全吸走，关闭负压开关。
14. 当压力恢复至0mbar时，将吸附柱取下，置于新的收集管(Collection Tube)中，12000rpm离心3分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。
15. 将吸附柱置于新的1.5ml离心管(Centrifuge Tube)中，向吸附柱的中间部位悬空加入20-150μl Buffer EB，室温放置3分钟，12000rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20℃保存DNA。

附表 1

试剂加入量	样本体积				
	1mL	2mL	3mL	4mL	5mL
Proteinase K	100μL	200μL	300μL	400μL	500μL



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com

Buffer CB	1.8mL	3.6mL	5.4mL	7.2mL	9.0mL
Buffer CL	800μL	1.6mL	2.4mL	3.2mL	4.0mL

附表 2

试剂加入量	样本体积			
	1mL	2mL	3mL	4mL
Proteinase K	125μL	250μL	375μL	500μL
Buffer CB	3.6mL	5.4mL	7.2mL	9.0mL
Buffer CL	1mL	2mL	3mL	4mL
Buffer GTL	250μL	500μL	750μL	1mL

注意事项:

1. 向每管Proteinase K粉末中加入指定用量的Proteinase K Storage Buffer使其完全溶解（10T加入5mL，50T加入9mL）-20℃保存。配制好的Proteinase K勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。其它组分可以在干燥、室温(15-30℃)环境下稳定保存一年。如需保存更长时间，可置于2-8℃。
2. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
3. 本试剂盒最多可以从5ml血清/血浆、4ml尿液中提取cfDNA。
4. 第一次使用前请按照试剂瓶标签的说明先在Buffer CB中加入异丙醇，混合均匀，并在试剂瓶标签上做好标记。
5. 第一次使用前按照试剂瓶标签说明先在Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇，混合均匀，在试剂瓶标签上做好标记。
6. 使用前请检查Buffer CL、Buffer CB是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer CL、Buffer CB于56℃水浴孵育重新溶解，混匀后使用。
7. 实验开始前请将水浴锅预热至60℃。
8. 可将洗脱缓冲液Buffer EB预热至60℃后使用。
9. 负压装置。

有效期: 12个月。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com