



Blood & Cell Culture DNA Mini Kit (Genomic-tip)

血液、细胞DNA小量提取试剂盒（阴离子交换柱法）

Cat. No. CW3712S

产品简介

本试剂盒采用新型阴离子交换树脂技术方法，可应用于样本类型为血液、细胞的高分子量基因组DNA的提取，提取长度可达150 kb。该方法通过重力流操作将动手时间减少到最小限度，多个样本可同时操作，同时整个纯化过程不需要苯酚或氯仿等有毒试剂，操作更加安全方便，3 h内即可获得高产量、高纯度的基因组DNA。纯化得到的DNA可用于测序、胚胎干细胞克隆的筛选、PCR等分子生物学实验。

保存条件： Buffer C1保存在2-8℃，其它组分室温（15-30℃）保存。

产品内容

Component	CW3712S 25 preps
Buffer C1	35 mL
Buffer G2	30 mL
Buffer CBT	30 mL
Buffer CC	85 mL
Buffer QF	60 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	0.8 mL
Buffer TB	10 mL
Genomic-tip 20/G	25 个

自备试剂：70%乙醇，异丙醇，蒸馏水（2-8℃），PBS。

实验前准备及重要注意事项

1. 准备70%的乙醇，并提前将70%的乙醇和蒸馏水放置到2-8℃的冰箱中。
2. Buffer C1应放置到2-8℃的冰箱中保存。
3. 提前将血液和细胞样本进行解冻。
4. 将水浴锅提前预热到50℃。

操作步骤

一、血液样本

1. 血液样本处理

- 1.1 在 (0.1–1 mL) 全血中加入1倍体积 (0.1–1 mL) Buffer C1和3倍体积蒸馏水 (0.3–3 mL)。

对离心管进行混合翻转，直到混合溶液变得半透明，之后在冰上培养10 min。

注意：Buffer C1和蒸馏水使用前应放置在2–8℃的冰箱中。

- 1.2 以4℃条件下，1300×g离心15 min。丢弃上清液。

- 1.3 分别加入0.25 mL Buffer C1和0.75 mL蒸馏水，重新涡旋混匀悬浮颗粒。再次在4℃下离心，在1300×g下离心15 min，丢弃上清液。

- 1.4 加入1 mL Buffer G2，以最大速度涡旋10–30 s，完全重悬细胞。

- 1.5 加入25 μL Proteinase K (20 mg/mL)，50℃孵育30–60 min。

2. 样本基因组提取

- 2.1 用1 mL Buffer CBT平衡Genomic-tip 20/G，并通过重力流穿树脂。

- 2.2 将步骤1.5处理后的血液样本以最大速度瞬时离心，并将溶液加入到平衡后的Genomic-tip 20/G，通过重力流穿树脂。

- 2.3 用1 mL的Buffer CC清洗Genomic-tip 20/G，重复清洗3次。

- 2.4 用1 mL的Buffer QF洗脱基因组DNA，重复清洗2次。

注意：Buffer QF在50℃条件下预热，有助于提高提取量。

3. 基因组DNA纯化

- 3.1 加入1.4 mL (0.7倍体积) 的异丙醇，轻轻旋转混匀后室温放置10 min。

- 3.2 立即在4℃条件下，>5000×g离心至少15 min，小心地吸弃上清液。

- 3.3 加入1 mL 70%冷乙醇到离心管中，颠倒混匀后，在4℃条件下，>5000×g离心10 min。小心地吸弃上清液。

- 3.4 室温条件下风干5–10 min，之后加入100–200 μL的Buffer TB。将装有基因组DNA的离心管放置在摇床上过夜或在55℃下放置1–2 h。

- 3.5 将收集DNA溶液放置在–20℃条件下保存DNA。

二、细胞样本

1. 细胞样本处理

- 1.1 将装有 5×10^6 个细胞的离心管以 $1500 \times g$ 离心10 min，吸弃上清液。
- 1.2 使用PBS洗涤细胞2次，离心条件是 $1500 \times g$ 离心10 min，洗涤后加入0.5 mL的PBS进行重悬。
- 1.3 加入1倍体积（0.5 mL）的Buffer C1和3倍体积的蒸馏水（1.5 mL），之后在冰上孵育10 min。

注意：Buffer C1和蒸馏水使用前应放置在2-8℃的冰箱中。

- 1.4 以4℃条件下， $1300 \times g$ 离心15 min。丢弃上清液。
- 1.5 分别加入0.25 mL Buffer C1和0.75 mL蒸馏水，重新涡旋混匀悬浮颗粒。再次在4℃下离心，在 $1300 \times g$ 下离心15 min，丢弃上清液。
- 1.6 加入1 mL Buffer G2，以最大速度涡旋10-30 s，完全重悬细胞。
- 1.7 加入25 μ L Proteinase K（20 mg/mL），50℃孵育30-60 min。

2. 样本基因组提取

- 2.1 用1 mL Buffer CBT平衡Genomic-tip 20/G，并通过重力流穿树脂。
- 2.2 将步骤1.7处理后的细胞样本以最大速度瞬时离心，并将溶液加入到平衡后的Genomic-tip 20/G，通过重力流穿树脂。
- 2.3 用1 mL的Buffer CC清洗Genomic-tip 20/G，重复清洗3次。
- 2.4 用1 mL的Buffer QF洗脱基因组DNA，重复清洗2次。

注意：Buffer QF在50℃条件下预热，有助于提高提取量。

3. 基因组DNA纯化

- 3.1 加入1.4 mL（0.7倍体积）的异丙醇，轻轻旋转混匀后室温放置10 min。
- 3.2 立即在4℃条件下， $>5000 \times g$ 离心至少15 min，小心地吸弃上清液。
- 3.3 加入1 mL 70%冷乙醇到离心管中，颠倒混匀后，在4℃条件下， $>5000 \times g$ 离心10 min。小心地吸弃上清液。
- 3.4 室温条件下风干5-10 min，之后加入100-200 μ L的Buffer TB。将装有基因组DNA的离心管放置在摇床上过夜或在55℃下放置1-2 h。
- 3.5 将收集DNA溶液放置在-20℃条件下保存DNA。