

全血细菌 DNA 试剂盒说明书

产品组成

全血细菌 DNA 试剂盒	5 次制备	50 次制备	250 次制备
Cat. No.	3004005	3004050	3004250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
溶菌酶	30 mg	300 mg	1.5 g
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	60 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	10 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

溶菌酶请置于 2~8℃ 贮存，其他试剂与物品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 350 μl 新鲜的或者是冷冻贮藏的人或动物全血中快速分离纯化血液总 DNA。溶菌酶将全血中的细菌破壁后，裂解液溶解全血及血液中的细菌，再经 Buffer L2 沉淀去除血红蛋白，上清中的细菌 DNA 与细胞 DNA 一起吸附到纯化柱上，经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤去除残留在膜上的蛋白与 PCR 抑制物后，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. 去离子纯水、无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管
3. 移液器及吸头（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 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 水浴锅或干浴锅、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 37℃，并将 Buffer TE 温育至 37℃。
3. 根据一次提取的样本数（按每个样本需加 50 μl 溶菌酶溶液计算）配制适量的 100 mg/ml 的溶菌酶溶液：例如要提取 10 个样本的细菌基因组 DNA，则称取 55 mg 溶菌酶干粉，加入 550 μl 去离子纯水配制成 550 μl 溶菌酶溶液。

注意：反复冻融溶菌酶溶液对其活性影响极大，如果一次配制了较多的溶菌酶溶液，应分装成小份于 -20℃ 储存，解冻使用后的溶菌酶溶液若有剩余，应予以丢弃，不可再次冻存。

4. 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做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤

注意事项: Buffer L1 和 Buffer L2 的用量必须精确地按 Buffer L1:溶菌酶处理后血液的体积:Buffer L2=300 μl:400 μl:300 μl 的体积比进行操作, 否则将导致后续步骤不能进行。

1. 在 1.5 ml 离心管中加入 50 μl 新鲜配制的溶菌酶溶液, 再加入 350 μl 全血, 混合均匀, 37°C 水浴 30 分钟。
2. 加入 300 μl Buffer L1, 盖上管盖, 剧烈摇晃 3—5 次, 旋涡振荡 30 秒。
 - * 如果从新鲜的血液中提取 DNA, 可能会同时将血液中的 RNA 一起分离纯化出来, 但是 RNA 的存在并不影响 PCR 相关的实验。如果要除去 RNA 污染, 可在本步骤中补加 4 μl RNase A (100 mg/ml, 本试剂盒不提供)。
3. 加入 300 μl Buffer L2, 盖上管盖, 剧烈摇晃 3—5 次, 再旋涡振荡 30 秒。
 - * 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 2 ml 收集管中), 盖上管盖, 12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 从某些动物血液中提取 DNA 时, 由于其血红蛋白较少, 可能离心得到上清液的体积会大于纯化柱的容积, 此时建议吸取 800 μl 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。
 - * 纯化柱膜上若残留有血色素为正常现象, 可被 Buffer WA 洗去。
6. 弃 2 ml 收集管中的滤液, 将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中, 在核酸纯化柱中加入 500 μl Buffer WA, 盖上管盖, 12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 滤液无须彻底弃尽, 如果要避免粘附在收集管管口的滤液对离心机的污染, 可将 2 ml 收集管在纸巾上倒扣拍击一次。
 - * 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。
7. 弃 2 ml 收集管中的滤液, 将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中, 在核酸纯化柱中加入 600 μl 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 2 ml 收集管中的滤液, 将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中, 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 2 ml 收集管, 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 60~100 μl 37°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°C 备用。