

版本号: DP130520

# TIANamp N96 Blood DNA Kit

## N96 血液基因组 DNA 提取试剂盒

(离心板型)

目录号: DP314

### 产品内容

产品组成	DP314 4 plates
缓冲液 CL (Buffer CL)	4 × 250 ml
缓冲液 GB (Buffer GB)	2 × 50 ml
缓冲液 GD (Buffer GD)	2 × 52 ml
漂洗液 PW (Buffer PW)	3 × 50 ml
洗脱缓冲液 TB (Buffer TB)	60 ml
Proteinase K	8 × 1 ml
96 孔吸附板 CB3 (N96 Plate CB3(H))	4 个
96 孔深孔板 (N96 Well Plate)	12 个
封口膜 (Plate Cover)	36 张

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25℃) 干燥条件下, 可保存 12 个月, 更长时间的保存可置于 2-8℃。2-8℃ 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在 37℃ 水浴中预热 10 min, 以溶解沉淀。

---

## 产品简介

本试剂盒可以处理新鲜、冻存的全血材料。96 孔吸附板 CB3 上的硅胶膜可以特异性吸附、结合 DNA。可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组 DNA 片段大（最大可达 50 kb，一般为 20-30 kb），纯度高，质量稳定可靠。可以同时处理 96 个样品。操作时无需酚/氯仿抽提，乙醇沉淀。本试剂盒同样适用于从培养细胞或动物组织中提取基因组 DNA。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

## 提取得率

材料	提取量	DNA 产量
全血	200 $\mu$ l-600 $\mu$ l	4-20 $\mu$ g

## 注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 使用前请按照瓶上标签在缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入相应体积的无水乙醇。
  2. 血液样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
  3. 若缓冲液 GB 中有沉淀，可在 37°C 水浴中重新溶解。
  4. 所有的离心步骤均为室温下进行。
  5. 洗脱缓冲液体积不应少于 50  $\mu$ l，体积过小影响回收效率。
  6. 洗脱液的 pH 对于洗脱效率有很大影响。若用去 ddH<sub>2</sub>O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0 - 8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。
  7. 使用排枪时应注意不要打湿 96 孔板孔口。离心时，封口膜务必封盖严实，以防离心过程中有液体溅出产生交叉污染。
-

---

## 操作步骤（200 $\mu$ l 血液处理流程）

使用前请先在去缓冲液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 在 96 孔深孔板中加入 20  $\mu$ l Proteinase K。
2. 每孔加入 200  $\mu$ l 血液样品，并对每个样品做相应的标记。
3. 加入 200  $\mu$ l 缓冲液 GB，枪头抽打 20 次，加盖新的封口膜，56 $^{\circ}$ C 放置 30 min，且每 10 min 取出轻柔晃动。

**注意：不要剧烈晃动，防止液体溅出产生交叉污染。当样本数目比较大时，可以按每 200  $\mu$ l GB 加入 20  $\mu$ l Proteinase K 的比例预先混合，混合后每个样本用量为 220  $\mu$ l。**

4. 揭去封口膜，加入 200  $\mu$ l 无水乙醇，枪头抽打 20 次混匀。
5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个 96 孔吸附板 CB3 中（吸附板放入新的 96 孔深孔板中），加盖新的封口膜 3,600 rpm( $\sim$ 2,130 $\times$ g)离心 10 min，倒掉深孔板中的废液，将吸附板重新放在深孔板上。
6. 向 96 孔吸附板 CB3 中加入 500  $\mu$ l 缓冲液 GD (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，加盖新的封口膜 3,600 rpm( $\sim$ 2,130 $\times$ g)离心 10 min，倒掉深孔板中的废液，将吸附板重新放在深孔板上。
7. 向 96 孔吸附板 CB3 中加入 500  $\mu$ l 漂洗液 PW(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，加盖新的封口膜 3,600 rpm( $\sim$ 2,130 $\times$ g)离心 10 min，倒掉废液，将吸附板重新放在深孔板上。
8. 向 96 孔吸附板 CB3 中加入 500  $\mu$ l 漂洗液 PW，加盖新的封口膜 3,600 rpm( $\sim$ 2,130 $\times$ g)离心 15 min，倒掉废液，将吸附板重新放在深孔板上。
9. 3,600 rpm( $\sim$ 2,130 $\times$ g)离心 10 min，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除。

**注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。**

10. 将 96 孔吸附板 CB3 转入一个新的 96 孔深孔板中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 80  $\mu$ l 洗脱缓冲液 TB，室温放置 5-10 min，加盖新的封口膜 3,600 rpm( $\sim$ 2,130 $\times$ g)离心 10 min 收集 DNA，用新的封口膜封口后用于下游实验或者 -20 $^{\circ}$ C 保存。

**注意：洗脱液的 pH 对于洗脱效率有很大影响。若用 ddH<sub>2</sub>O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解。**

---

---

## 操作步骤（600 $\mu$ l 血液处理流程）

使用前请先在去蛋白液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

### 1. 处理材料：

将 600  $\mu$ l 的血液样品加到 96 孔深孔板中，并对每个样品做相应的标记。向每孔样品中加入 2 倍样品体积的细胞裂解液 CL（深孔板最多容量为 2.2 ml），枪头抽打 20 次混匀，加盖封口膜，3,600 rpm (~2,130 $\times$ g) 离心 10 min，揭去封口膜，抽弃上清；

### 2. 再次加入 2 倍样品体积的细胞裂解液 CL，枪头抽打 10-20 次混匀，加盖新的封口膜，3,600 rpm (~2,130 $\times$ g) 离心 10 min，抽弃上清至剩余约 200 $\mu$ l 残留溶液。

### 3. 加入 20 $\mu$ l Proteinase K 和 200 $\mu$ l 缓冲液 GB，枪头抽打 20 次，加盖新的封口膜，56 $^{\circ}$ C 放置 30 min，且每 10 min 取出轻柔晃动。

**注意：当样本数目比较大时，可以按每 200  $\mu$ l GB 加入 20  $\mu$ l Proteinase K 的比例预先混合，混合后每个样本用量为 220  $\mu$ l。**

### 4. 此后操作接 200 $\mu$ l 血液处理 protocol 步骤 4。

## DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA 应在 OD<sub>260</sub> 处有显著吸收峰，OD<sub>260</sub> 值为 1 相当于大约 50  $\mu$ g/ml 双链 DNA、40  $\mu$ g/ml 单链 DNA。

OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值应为 1.7–1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用 ddH<sub>2</sub>O，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值。

---