**血清/血浆游离DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2616**

**■ 产品简介：**

本产品适用于从小剂量的血清/血浆中提取游离DNA。本试剂盒采用可以特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，样品裂解后，DNA在高盐条件下与硅胶膜结合，在低盐、高pH值时DNA从硅胶膜上洗脱下来。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **DZ18（50次）** |
| 裂解液KS | 25 ml |
| 缓冲液GA1 | 25 ml |
| 漂洗液PD | 12 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 1 ml |
| Carrier RNA | 50 µl |
| 吸附柱C2（含2 ml收集管） | 50个 |

**■ 保存条件**：

试剂盒室温（15-25℃）。Carrier RNA，蛋白酶K保存于-20℃。

**■ 自备试剂**：

无水乙醇。

**■ 注意事项：**

1. 若裂解液KS出现沉淀，可在37℃水浴中重新溶解，摇匀后使用。
2. 所有离心步骤均使用台式离心机，室温下操作。
3. 为了确保从微量样本中得到更多的DNA，试剂盒配备 Carrier RNA。由于 Carrier RNA 本身是小核酸，所以得到的基因组测定 OD260 值会比真实值偏大，建议将得到的基因组直接用PCR进行检测。

**■ 操作步骤：**

（1）取100 µl -200 µl血清/血浆到1.5 ml的离心管中，如不足100 µl，加裂解液KS到100 µl终体积。

（2）加入20 µl蛋白酶K溶液，涡旋混匀。

（3）加入200 µl的缓冲液GA1（可加入1 µl Carrier RNA，浓度为1 µg/µl）轻轻颠倒混匀，65℃孵育10 min，并不时摇动样品。简短离心以去除管盖内壁的液滴。

**注意：加入缓冲液GA1时可能会产生白色沉淀，一般65℃放置时会消失，不会影响后续实验。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。**

（4）加入200 µl的无水乙醇。如果室温超过25℃，请将乙醇置冰上预冷。轻轻颠倒混匀样品，室温放置5 min，简短离心以去除管盖内壁的液滴。

（5）将上一步所得溶液添加到一个吸附柱C2中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm离心30 sec，弃废液，将吸附柱C2放回收集管中。

（6）向吸附柱C2中加入500 µl漂洗液PD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心30 sec，弃废液，将吸附柱C2放回收集管中。

（7）向吸附柱C2中加入600 µl漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）12,000 rpm离心30 sec，弃废液，将吸附柱C2放回收集管中。

（8）重复操作步骤7。

（9）12,000 rpm离心2 min，倒掉废液。将吸附柱C2置于室温放置2-5 min，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶切、PCR等实验。**

（10）将吸附柱C2转入一个干净的离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加20-50 µl洗脱缓冲液EB，室温放置2-5 min，12,000 rpm离心2 min，将溶液收集到离心管中。

**注意：洗脱缓冲液体积不应少于20 μl，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再次加入吸附柱C2中，室温放置2 min，12,000 rpm离心2 min。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其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℃，以防DNA降解。**