

大量全血 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

大量全血 DNA 提取试剂盒	24 次制备
Cat. No.	3032024
红细胞裂解液	200 ml × 4
Buffer BL	250 ml
Buffer BK	80 ml
Buffer TE	25 ml
说明书	1 份

产品储存与有效期

1. 产品如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。
2. 环境温度低时 Buffer BL 中某些去污剂成份会析出出现浑浊或者沉淀，可在 37℃ 水浴加热几分钟，即可恢复澄清，不要剧烈摇晃，以免形成过量的泡沫。
3. Buffer BK 可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，如果不能完全溶解，也不影响使用效果，直接取用上层溶液即可。
4. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

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

本试剂盒适合从未溶血的抗凝全血（血液采集后 2~8℃ 储存不超过一周）中快速提取基因组 DNA。产品不需要蛋白酶 K 消化及酚氯仿试剂的使用，可从 10 ml 抗凝血中提取 150-500 μg 大片段（50~150 kb）基因组 DNA。首先红细胞裂解液裂解去除不含 DNA 的红细胞，Buffer BL 裂解白细胞释放出基因组 DNA，然后 Buffer BK 选择性沉淀去除蛋白，离心上清中的基因组 DNA 通过异丙醇沉淀并重溶于 Buffer TE 中，获得的 DNA 可直接用于构建文库、PCR、Southern-blot 和各种酶切反应。

用户需自备的试剂与物品

1. 70%乙醇与异丙醇。
2. 50 ml 离心管。
3. 移液器及配套吸头。
4. 一次性手套及防护用品和纸巾。
5. 转速可以达到 2,500×g，并配备容纳 50 ml 心管转头的传统台式离心机。
6. 水浴锅和旋涡震荡器。

使用前准备

如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。

操作步骤

1. 吸取 30 ml 红细胞裂解液加入到一个 50 ml 离心管中。
2. 将抗凝全血颠倒混匀后,吸取 10 ml 加入到步骤 1 中装有红细胞裂解液的 50 ml 离心管中,颠倒 6-8 次混合均匀。
 - * - 20℃ 冷冻过的抗凝血红细胞和白细胞都已经破裂溶解,不能用本试剂盒提取 DNA,请选择 Simgen 全血 DNA 中量试剂盒 (Cat. No 3022025) 提取溶血的血液中的 DNA。
3. 室温放置 10 分钟。
4. 2,500×g 离心 2 分钟,倒弃红色上清,并尽可能多的吸弃上清,保留管底完整的白细胞团和大约 100 μl 的残留上清。
 - * 离心后在管底应该见到白色的白细胞团,也可能有一些红细胞残片和白细胞团混在一起,如果看到的是大部分的红色细胞团,说明红细胞裂解不够充分,则应再加入 3 ml 红细胞裂解液重悬细胞团后重复步骤 3, 4 一次。
5. 旋涡震荡直到白细胞团充分重悬、分散。
 - * 白细胞的重悬分散对下一步裂解非常重要,如果白细胞未充分悬浮就加入 Buffer BL,会导致白细胞不能充分裂解,严重影响基因组 DNA 的回收率。
6. 加入 10 ml Buffer BL 到重悬的白细胞,盖紧管盖,立即用力摇晃 10 次,再剧烈旋涡震荡 10 秒帮助裂解白细胞。
 - * 裂解后的白细胞应形成粘稠均匀的透明溶液,否则应继续旋涡震荡直至细胞彻底溶解。
7. 加入 3 ml Buffer BK,在旋涡震荡器上高速连续震荡混匀 25 秒。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。
8. 2,500×g(可根据需要调整加大离心力)离心 5 分钟。这时候应该可以见到管底暗褐色的蛋白沉淀,也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。
9. 小心吸取全部上清到一个新的 50 ml 离心管中。
 - * 吸取上清时,注意不要吸到管底的和漂浮在液体表面的蛋白沉淀。如果不小心将蛋白沉淀转入新的离心管中,可再次离心 2 分钟后取上清。
10. 加入 11 ml 异丙醇,轻柔颠倒 30 次混匀或者直到出现棉絮状(丝状)白色 DNA 沉淀。
11. 2,000×g 离心 3 分钟,在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块,倒弃上清。
12. 加入 10 ml 70% 乙醇,颠倒几次漂洗 DNA 沉淀,2,000×g 离心 1 分钟,倒去上清(沉淀很松,注意不要丢弃 DNA 沉淀),低速离心数秒,用吸头小心吸掉管底沉淀周围的残留乙醇,开盖,室温静置 5~10 分钟晾干 DNA 沉淀。
 - * 注意不要过度干燥,否则 DNA 极难溶解;也不能残留太多乙醇,如果静置 10 分钟后还能闻到乙醇味,可适当延长静置时间 3~5 分钟。
13. 加入 600 μl Buffer TE 溶解 DNA 沉淀。可放置在 65℃ 水浴 30-60 分钟(不要超过一小时),或者 4℃ 放置过夜溶解 DNA。
 - * 水浴期间每隔 5~10 分钟轻弹管壁帮助 DNA 溶解。(如果需要高浓度 DNA,可根据需要减少 Buffer TE 用量)。
14. 将溶解后的 DNA 放置在 - 20℃ 储存。