

Blood DNA Midi System

中量全血基因组 DNA 提取试剂盒

(溶液型)

目录号

DNE03 (50 preps)

试剂盒组成

Component	DNE03 (50 preps × 3 ml)
10× Buffer RCL (10× 红细胞裂解液)	100 ml
Buffer FG (细胞核裂解液)	75 ml × 2
Buffer PN (蛋白沉淀液)	50 ml
Buffer TE (DNA 溶解液)	20 ml

保存方法

室温 (15-30°C) 保存。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒采用独特的缓冲系统，快速提取 3 ml 加入各种抗凝剂的新鲜血液和冻存血液样品基因组 DNA。本缓冲液系统可最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染，提取的基因组 DNA 片段大，产量高，纯度高，稳定可靠。

本试剂盒避免使用苯酚、氯仿等有机溶剂，抽提的 DNA 适用于各种常规操作，如 PCR、酶切、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等实验。

提取得率（根据血液样品中白细胞数量的不同，DNA 产量有所差异）

材料	保存时间	提取量	DNA 产量	OD260/OD280
人类全血	4°C一周	300 µl	4-15 µg	1.7-1.9
人类全血	4°C一周	3 ml	50-150 µg	1.7-1.9
人类全血	4°C一周	10 ml	150-500 µg	1.7-1.9

注意事项

1. 本试剂盒为溶液型，可以很容易的**按照比例扩大或缩小每次处理的全血量**。
2. 已加入抗凝剂的血液可在 4°C 储存最多 10 天，为了得到最佳效果，最好使用新鲜血液样品或者 4°C 存放小于 3 天的样品。需长期保存的血液请置于 -70°C 保存，尽量避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段小且提取量下降。
3. 低温时如果 Buffer FG 产生沉淀，请水浴加热使其溶解后使用。
4. 需自备异丙醇和 70% 乙醇。

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

1. 吸取 9 ml 1× 红细胞裂解液 RCL 到一个 15 ml 离心管。
注意：使用前先用去离子水将 10× 红细胞裂解液稀释 10 倍到 1×。
2. 将抗凝全血颠倒混匀后（使用前回复到室温），吸取 3 ml 加到上述装有 1× 红细胞裂解液离心管中，颠倒混匀 10 次，2,500×g 离心 2 min，倒弃红色上清。
3. 再加入 9 ml 1× 红细胞裂解液 RCL，用移液器将沉淀吸打重悬后 2,500×g 离心 2 min，吸弃上清，留下管底白色沉淀和残留的大约 50 µl 上清。
4. 涡旋振荡 15 s 重悬白细胞核团，使其充分分散，有助于下一步细胞核裂解。
5. 加入 3 ml 细胞核裂解液 FG 到重悬的白细胞核团，用移液器反复吸打裂解白细胞核团，此时溶液应带有粘稠感。颠倒旋转离心管数次以确保裂解液和所有白细胞核接触并裂解。
注意：如果还有可见团块，则将溶液 65°C 孵育 5 min 直至团块溶解消失。
6. **可选步骤，一般不需要：**向裂解物中加入 10 µl RNase A（25 mg/ml），颠倒混匀后室温孵育 5 min 消化去除 RNA。

7. 加入 1 ml 蛋白沉淀液 PN，在涡旋振荡器上**高速连续涡旋振荡混匀 25 s**，混匀后可能见到一些小的蛋白团块。
 8. 2,500×g 离心 5 min，管底可见暗褐色的蛋白沉淀。
 9. 小心吸取上清（大约 3 ml）到一个新的 15 ml 离心管中。
注意：吸取上清时不要吸到管底和可能漂浮在表面的蛋白沉淀。为避免 DNA 被蛋白污染，可剩下少许上清，勿吸取得过于彻底。
 10. 加入等体积室温异丙醇（3 ml），轻轻颠倒混匀 30 次或直至白色线状或簇状 DNA 形成沉淀。
 11. 2,500×g 离心 3 min，在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块，倒弃上清。
 12. 加入 3 ml 70%乙醇，颠倒几次漂洗 DNA 沉淀和管壁，2,500×g 离心 1 min，小心倒去上清（注意不要把 DNA 沉淀倒掉）。将离心管倒置在干净的吸水纸上控干残留乙醇，还可以短暂离心后用枪头吸掉管底残留乙醇，空气中晾干几分钟。
注意：不要过于干燥，否则 DNA 很难溶解，也不能残留太多乙醇，否则乙醇可能抑制下游酶切等反应。
 13. 加入 250 μ l 的 DNA 溶解液 Buffer TE 重新水化溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65°C 温育 10-60 min，其间不时的轻弹管壁帮助 DNA 溶解。也可以在室温或者 4°C 放置过夜来重新水化 DNA。2-8°C 保存 DNA，或者 -20°C 长期保存。
-