

小量全血基因组 DNA 提取试剂盒（溶液型）

货号： NG403S 100 次

NG403M 200 次

试剂盒组成	保存	100 次	200 次
10x 红细胞裂解液 RSL	室温	20 ml	40 ml
细胞核裂解液 CL	室温	40 ml	80 ml
蛋白沉淀液	室温	15 ml	30 ml
DNA 溶解液	室温	10 ml	20 ml

储存事项:

1. 环境温度低时细胞核裂解液中某些去污剂成份会析出出现浑浊或者沉淀，可在 37°C 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。
2. 蛋白沉淀液可能出现析出和沉淀，可以在 37°C 水浴几分钟重新溶解，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。
3. 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。

产品介绍:

本试剂盒根据全血特点采用几个快速步骤提取基因组 DNA。首先红细胞裂解液裂解去除不含 DNA 的红细胞，细胞核裂解液裂解白细胞释放出基因组 DNA，然后蛋白沉淀液选择性沉淀去除蛋白，最后纯净的基因组 DNA 通过异丙醇沉淀并重溶解于 DNA 溶解液。

产品特点:

1. 从十几个配方中优选出的红细胞裂解液配方，裂解快速完全。
2. 不需要使用有毒的苯酚等试剂。
3. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 30 min 内完成。
4. 结果稳定，产量高（典型的产量 300 μ l 全血可提取出 4-15 μ g），OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 1.7 ~ 1.9，长度可达 50Kb-150kb，可直接用于构建文库、PCR、Southern-blot 和各种酶切反应。

注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成，离心机转速需达到 13,000 rpm。
2. 需自备异丙醇和 70% 乙醇。
3. 典型的产量 300 μ l 全血可提取出 5-15 μ g 基因组 DNA（不同样品尤其疾病样品中白细胞数量差异可能非常大，因此产量的个体差异也可能非常大）。
4. 本试剂盒为溶液型，可以很容易的按照比例扩大或者缩小每次处理的全血量（20 μ l-10 ml），请联系我们索取其它处理量的操作手册。
5. 本试剂盒可运用于多种抗凝剂的全血，如 EDTA、柠檬酸、肝素抗凝血。其中由于肝素抗凝血的白细胞沉淀团很难打散重悬，影响裂解效果，建议选用非肝素的抗凝剂收集血液标本。
6. 为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者 4°C 存放小于 3 天的标本，不要使用反复冻融超过 3 次的标本，否则会严重降低产量。

操作步骤：(实验前请先阅读注意事项)

1. 吸取 900 μ l ddH₂O 和 100 μ l 10x 红细胞裂解液 (稀释到 1x) 到一个 1.5ml 离心管。
2. 将抗凝全血 (使用前恢复到室温) 颠倒混匀后, 吸取 300 μ l 加到上步装有红细胞裂解液的离心管中, 颠倒 6-8 次, 并倒置轻弹管壁, 确保充分混匀。
3. 室温放置 10 min (期间应该颠倒轻弹, 混匀数次帮助裂解红细胞)。
4. 12,000 rpm 离心 20 sec, 弃红色上清, 并小心的尽可能多的吸弃上清 (注意不要吸到管底的细胞团), 留下完整的管底白细胞团和大约 50 μ l 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在一起, 但是如果看到的是大部分的红色细胞团, 说明红细胞裂解很不充分, 应该重复步骤 1-4 操作, 重新裂解红细胞。

5. 涡旋振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, 白细胞未打散就加入细胞核裂解液, 会导致白细胞不能充分裂解, 形成肉眼可见团块。

6. 加入 400 μ l 细胞核裂解液到重悬的白细胞, 上下吹打裂解白细胞, 或者剧烈涡旋 10 sec 帮助裂解白细胞。
7. **可选步骤, 一般不需要:** 在裂解物中加入 RNase A (10 mg/ml) 至终浓度 30 μ g/ml, 颠倒 25 次混匀, 37°C 温育 15 min 去除残留 RNA, 然后冷却回室温。
8. 加入 150 μ l 蛋白沉淀液后, 在**涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 25 sec**。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。
9. 13,000 rpm 离心 5 min。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。
10. 小心吸取上清 (大约 500 μ l) 到一个新的 1.5 ml 离心管中。

吸取上清时, 注意不要吸到管底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。

11. 加入等体积的室温异丙醇 (500 μ l), 轻柔颠倒 30 次混匀或者直到出现棉絮状 (丝状) 白色 DNA 沉淀。
12. 12,000 rpm 离心 1 min, 在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块, 倒弃上清。
13. 加入 1 ml 70%乙醇, 颠倒几次漂洗 DNA 沉淀, 12,000 rpm 离心 1 min, 倒去上清 (注意不要把 DNA 沉淀倒掉了), 倒置后在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇, 还可以用枪头小心吸掉管底沉淀周围和管壁的残留乙醇, 空气晾干沉淀几分钟。

注意不要干燥过头, 否则 DNA 极其难溶; 也不能残留太多乙醇, 否则乙醇可能抑制下游如酶切反应。

14. 加入 100 μ l DNA 溶解液重新溶解 DNA 沉淀, 轻弹管壁混匀, 可以放置在 65°C 温育 30-60 min (不要超过一小时), 期间不时的轻弹管壁帮助重新水化 DNA。也可以在室温或者 4°C 放置过夜来重新水化 DNA。
15. DNA 可以存放在 2-8°C, 如果要长时间存放, 可以放置在 -20°C。