

全血基因组DNA提取试剂系统使用说明书

货号：AC11016

规格：50T/200T

保存：RNase A、蛋白酶K 于-20℃保存。其他室温(15℃-25℃) 干燥保存，复检期12个月，2℃-8℃保存时间更长。

产品内容：

| 货号 | 50T | 200T |
|-----------|------|-------|
| 10×红细胞裂解液 | 30ml | 120ml |
| 白细胞裂解液 | 30ml | 120ml |
| 蛋白沉淀液 | 30ml | 120ml |
| DNA溶解液 | 15ml | 60ml |

产品说明：

产品适用于处理新鲜的或已经添加抗凝剂的血液样品，采用异丙醇沉淀方法，操作简便，尤其适合大量提取血液基因组DNA。提取的DNA可用于PCR、酶切等常规分子生物学实验。少量样本也可选购我公司吸附柱型试剂盒（D1800 全血基因组DNA提取试剂盒）。

本产品使用前请根据使用量将10×红细胞裂解液用水稀释成1×的即用型红细胞裂解液。

| 处理血液量 | 1ml | 5ml | 10ml |
|------------|-------|-------|------|
| 红细胞裂解液(1×) | 5ml | 25ml | 50ml |
| 白细胞裂解液 | 0.5ml | 2.5ml | 5ml |
| 蛋白沉淀液 | 0.5ml | 2.5ml | 5ml |
| 异丙醇 | 1ml | 5ml | 10ml |
| 75%乙醇 | 1ml | 5ml | 10ml |
| DNA溶解液 | 100ul | 0.5ml | 1ml |

操作步骤：

以1ml全血为例

- 1、样品的处理：在血液中加入3倍体积的1×红细胞裂解液(请确认已经稀释过)，充分颠倒混匀，12000rpm离心1min(如为大量提取并且为大离心机，可11000转离心5min)，小心吸去上清，再加入2倍体积的1×红细胞裂解液，用移液器轻轻吹打沉淀，充分混匀，离心，弃上清，沉淀为白细胞。
- 2、向沉淀中加500ul白细胞裂解液，振荡或者用移液器吹打至彻底混匀。65℃水浴10-20min，期间可颠倒离心管混匀数次，直至溶液较为清澈看不见明显细胞为止。
- 3、加入500ul蛋白沉淀液，充分颠倒混匀，此时会出现白色沉淀，65℃水浴5min，12000rpm离心5min，小心吸取上清(不要吸到下层沉淀或漂浮不溶物)，转移到干净离心管中，如还有沉淀物，可再次离心。
- 4、在上清中加入1ml异丙醇，混匀。12000rpm离心5min，可看到管底有少量白色DNA沉淀，弃掉上清。
- 5、向离心管中加入1ml 75%乙醇，12000rpm离心5min，弃去上清液。可再次短暂离心用移液器去除残余上清。
- 6、将离心管敞口置于室温或50℃温箱放置数分钟，否则乙醇可能影响后续的实验如酶切、PCR等。

7、向离心管中加入100-300ul DNA溶解液，室温放置让DNA自然溶解。如果DNA难于溶解，可室温放置过夜或将离心管置于50-60℃水浴中水浴加热5min。

注意事项:

- 1、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。
- 2、若试剂盒中的溶液出现沉淀，可在65℃水浴中重新溶解后再使用，不影响提取效果。
- 3、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OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约 50 μg/ml双链DNA、40 μg/ml单链DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。