

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 μl ddH₂O 和 100 μl 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 μl 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 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 μl 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 $\mu\text{g/ml}$, 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 μl 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 μl) 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 μl), 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 μl 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。