



全血基因组 DNA 提取试剂盒

产品编号: NEP004-2

产品规格: 100T

产品简介:

本试剂盒适用于从加入抗凝剂保存的新鲜、冷冻血液中提取基因组 DNA。细胞被裂解和蛋白酶 K 消化后, DNA 被释放出来, 在高盐的条件下, 硅基质膜的柱子特异的吸附 DNA, 在低盐高 pH 值条件下, 被吸附的 DNA 被洗脱下来。纯化过的基因组 DNA 可以直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

组成:

成分	100 次	注意事项
Proteinase K	1 ml	-20℃ 保存
Solution A	200 ml	4℃ 保存
Solution B	70 ml	室温低可能有沉淀, 50℃ 加热溶解
Solution C	54 ml	用前加入 36 ml 无水乙醇, 充分混匀
Solution D	16 ml×2	用前每瓶加入 64 ml 无水乙醇, 充分混匀
Solution E	20 ml	
离心柱	100 个	单个最大吸附量 20 μg

实验前试剂准备

Solution C 中加入 36ml 无水乙醇, 充分混匀。

Solution D 分两瓶装, 每瓶中分别加 64ml 无水乙醇。

储存条件:

本试剂盒使用前于 4℃ 保存, 使用后请按照上面组成注意事项中条件保存, 未说明一律可常温保存。

步骤:

1. 取 200 μl~300 μl 全血, 加入 900 μl Solution A, 温和混匀 5~6 次。冰上放置 10 min, 12,000 rpm 离心 1min, 小心弃上清, 勿将沉淀倒出。
 - 1) 若红细胞溶解不完全, 则沉淀物发红, 可再加 900 μl Solution A, 重复上述步骤一次。
 - 2) 若全血在使用之前被冷冻, 则需重复步骤 1 两次。
2. 加入 600 μl 的 Solution B, 温和振荡或用移液枪轻轻吹起沉淀即可, 加入 10 μl Proteinase K, 混匀。70℃ 水浴 10 min, 期间温和混匀几次。
3. 12,000 rpm 离心 5 min, 小心将上清转入新的离心管中, 加入 500 μl 无水乙醇, 充分混匀。
4. 将混匀的液体转入离心柱中 (若一次转不完, 可分次转入), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。
5. 加入 700 μl Solution C (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 30 s~1min, 弃废液。
6. 加入 700 μl Solution D (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000rpm 离心 30s~1min, 弃废液。
7. 加入 500 μl Solution D, 12,000 rpm 离心 30 s~1 min, 弃废液。



- 再次 12,000 rpm 离心 2min, 将离心柱置于新的离心管中, 并打开离心柱盖, 于室温或 37℃ 恒温箱放置 5~10 min 直至无明显乙醇味。
- 在硅基质膜中央加入 50-200 μ l Solution E (事先预热 55-65℃), 置于室温 2~5 min, 12,000 rpm 离心 2 min。
- 离心得到的溶液再次加入离心柱中, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 2 min。所得的溶液为纯化后的 DNA。

纯化效果检测:

提取后得到的产物可用琼脂糖凝胶电泳检测和紫外分光光度计检测浓度和纯度。

DNA 在 260nm 处有吸收峰, 检测时应该使 OD₂₆₀ 值在 0.1 到 1.0 之间数值较准确。OD₂₆₀ 为 1 时大概相当于 50 μ g/ml 双链 DNA, 40 μ g/ml 单链 DNA。

核酸浓度 (μ g/ml) = OD₂₆₀ × 50 × 稀释倍数。

OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的值应该为 1.7~2.0。

常见问题分析:

常见问题	可能原因	建议
DNA 产量低	血样保存时间过长	4℃ 保存血样不要超过 3 天, 尽量使用新鲜血样
	Solution C、Solution D 没有加无水乙醇	按说明书加入无水乙醇
	洗脱效率低	洗脱液使用前可 55~65℃ 预热; 自备洗脱液 pH 值不合适, 应保证在 7.5~8.5
	样品裂解不完全	适当延长裂解时间
	Proteinase K 失活	Proteinase K 应在 -20℃ 保存, 多次使用时, 可分装成数管, 以避免反复冻融
所提取的 DNA 有降解	血样保存时间过长	尽量使用新鲜血样
	血液取样时没及时处理	取样时应及时处理, 尽量 -80℃ 保存
	操作过于剧烈	操作时动作幅度不要过大、过于剧烈
DNA 纯度低	消化不完全	样品量不要超过规定范围; 延长消化时间, 使样品充分消化;
	洗涤不当	严格按照说明书步骤洗脱
	乙醇未除干净	适当延长晾干时间, 使乙醇充分挥发