

实验前准备

- 按下表(左)用ddH₂O稀释ERL Buffer (10×)。
- 按下表(右)用无水乙醇稀释DNA Wash Buffer, 并于室温保存。

D3471-00: 加入27ml ddH₂O

D3471-00: 加入8ml无水乙醇

D3471-01: 加入225ml ddH₂O

D3471-01: 每瓶加入80ml无水乙醇

D3471-02: 加入630ml ddH₂O

D3471-02: 每瓶加入80ml无水乙醇

离心操作方案

A: SE血液DNA提取试剂盒操作步骤(不多于300ul全血)

客户自备设备与试剂:

台式离心机和无核酸酶2ml离心管;

水浴锅:65℃;

培养箱:37℃;

无水乙醇(96-100%);

可选:蛋白酶K(20mg/ml)。

- 将样品加至2ml离心管, 加3倍体积ERL Buffer, 混匀, 室温放置5min, 放置时适当摇匀。
(注意:ERL Buffer必须稀释后才能用)
- 室温14,000xg离心30s, 在不打散白色沉淀的情况下去除上清, 剩余10ul左右。如果血液样品是冰冻的, 重复操作步骤1-2直至沉淀为白色。
(如果白细胞沉淀上仍有一些红细胞或细胞残质, 可加2体积的ERL混匀, 室温放置2min, 进行步骤2至沉淀为白细胞沉淀。
- 振荡离心管重悬白细胞沉淀, 加入240ul WTL Buffer, 高速振荡30s裂解细胞, 溶液变得粘稠, 如果溶液混匀后仍有明显凝块存在可放在37℃水浴直至其消失。
- (建议) 加3ul蛋白酶K, 混匀, 放于55℃水浴10-30min。
- 加入2ul Rnase A溶液混匀, 室温放置10min。
- 加入250ul Buffer B1, 振荡混匀, 65℃10min, 在此期间混匀2次。
- 加250ul无水乙醇, 振荡完全混匀。如果出现可见颗粒, 上下摇晃10次。
- 把HiBind DNA柱套在2ml收集管中(已提供), 将第七步得到的溶液全部转入柱中, 大于8,000xg离心1min, 弃去滤液
- 把柱子装在新收集管中, 加入500ul HB Buffer, 按上述条件离心, 弃去滤液。
- 把柱子装回收集管中, 加入650ul DNA Wash Buffer(含乙醇), 按上述条件离心, 弃去滤液。
注意: 浓缩的DNA Wash Buffer在使用之前必须按标签的提示用乙醇稀释。如果放入冰箱中, 使用前须恢复到室温。
- 把柱子装在新收集管中, 加650ul DNA Wash Buffer, 按上述条件离心, 弃去滤液。
- 弃去滤液, 把柱子装回收集管, 最高速(大于13,000xg)离心空柱2min以干燥柱子基质。
注意: 不要忽略此步——这对从柱子上除去乙醇至关重要。
- 把柱子装在干净的1.5ml离心管上, 加入50-100ul 70℃预热的Elution Buffer到柱子中央。室温静置5min。
- 室温下, 10,000xg离心1min以洗脱DNA。
- (可选)将柱子置于另一干净的1.5ml离心管上, 重复步骤13-14以洗脱残留在柱子上的DNA。

B: SE血液DNA提取试剂盒操作步骤(400ul-1ml全血)

客户自备设备与试剂:

微量离心机至少13,000xg;

15ml台式离心机转子能力须达到2,000xg;

水浴锅或培养箱: 37℃;

1.5ml无核酸酶离心管;

可选: 蛋白酶K (20mg/ml)。

1. 将少于1ml样品加至15ml离心管, 加3倍体积1×ERL Buffer, 混匀, 室温放置5min, 放置时适当摇匀。
(注意: ERL Buffer必须稀释后才能用)
2. 室温2,000xg离心5min, 在不打散白色沉淀的情况下去除上清, 剩余20ul左右。如果血液样品是冰冻的, 重复操作步骤1-2直至沉淀为白色。
(如果白细胞沉淀上仍有一些红细胞或细胞残质, 可加2倍体积的ERL混匀, 室温放置2min, 进行步骤2至沉淀为白细胞沉淀。
3. 振荡离心管重悬白细胞沉淀, 加入230ul WTL Buffer, 高速振荡30s裂解细胞, 溶液变得粘稠, 如果溶液混匀后仍有明显凝块存在可放在37℃水浴直至其消失。
4. (建议) 加3ul蛋白酶K, 混匀, 放于55℃水浴30min。
5. 加入2ul Rnase A溶液混匀, 室温放置10min。
6. 加入250ul Buffer B1, 振荡混匀, 65℃放置10min, 在此期间混匀2次。
7. 加250ul无水乙醇, 振荡完全混匀。如果出现可见颗粒, 上下摇晃10次。
8. 重复A方案步骤8-15。

快速流程图



<300ul 血液, 加3V ERL Buffer, 14,000xg离心30s

裂解: 240ul WTL Buffer, 250ul Buffer BL, 65度水浴10分钟

400ul-1ml血液, 加3V ERL Buffer, 2,000xg离心5min

裂解: 230ul WTL Buffer, 250ul Buffer BL, 65度水浴10分钟



加入250ul无水乙醇调节结合条件
上柱吸附DNA (10,000xg, 1min)



除蛋白质: 500ul Buffer HB
脱盐: 650ul DNA Wash Buffer洗两次



洗脱: 50-100ul 70℃ 预热Elution Buffer(可洗两次)

订货信息

品名	样品用量	货号 and 次数	价格
SE Blood DNA Kit	<1ml抗凝血液	D3471-00(20)	¥150.00
		D3471-01(50)	¥300.00
		D3471-02(200)	¥1000.00