



Relax-ISO Blood DNA Kit II 溶液型血液 DNA 提取试剂盒

产品简介

本试剂盒采用独特的缓冲液系统，提取0.1ml-20ml加入各种抗凝剂的新鲜血液和冻存血液样品基因组DNA。本缓冲液系统可最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染。提取的基因组DNA片段大，产量高，纯度好，稳定可靠。本试剂盒避免使用苯酚、氯仿等有机溶剂，回收的DNA 可适用于各种常规操作，如酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

试剂盒组成

产品编号	D1401	D1405	D1406
处理血量	10ml	50ml	200ml
Buffer RL (10X)	10ml	20ml	75ml
Buffer WL	10ml	30ml	110ml
DNA Wash Buffer	13ml	26ml	26ml*2
TE Buffer	25ml	50ml	100ml
Proteinase K	125µl	250µl	1ml
说明书	1	1	1

储存和稳定性

Proteinase K -20℃保存，其余组分室温保存，一年有效。低温时Buffer WL可能会有沉淀，请于55℃水浴中溶解后再使用。

浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释： 每瓶加入104 ml 无水乙醇

Buffer RL(10X)提供的是10倍的浓缩液，需要1:9稀释。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1.血液样品反复冻融，会导致提取的DNA片段较小、且提取量下降。所得基因DNA也应尽可能避免反复冻融，以免断裂。

2.血液样品的储存：

A:短期保存：已加入抗凝剂的血液样品可在2-8℃储存最多10天，对于某些实验例如Southern杂交等，需要得到完整全长的基因组DNA，请将血液样品在2-8℃储存不超过3天，此时基因组DNA的降解程度较轻。

b) 长期保存：已加入抗凝剂的血液请置于-70℃保存（如果提取的是高分子量的DNA，推荐使用EDTA作为抗凝剂）

DNA预期产量

品种及原料	起始样品量	理论产量
人全血（产量高低依赖于白细胞的数量）	50µl	0.3-0.6µg
	100µl	1-5µg
	200µl	3-10µg
	300µl	5-15µg
	500µl	7-23µg
	600µl	10-30µg
小鼠全血	50µl	0.2-0.6µg
	100µl	0.5-1.0µg
	200µl	2-5µg
	300µl	4-7µg

不同的起始样品所需的各种试剂的量

血量	100µl	300µl	1000µl	3000µl	5000µl	10ml	20ml
Buffer RL	250µl	750µl	2.5ml	7.5ml	12.5ml	25ml	50ml
Buffer WL	50µl	150µl	500µl	1.5ml	2.5ml	5ml	10ml
Proteinase K	0.5µl	1.5µl	5µl	15µl	25µl	50µl	100µl
100%异丙醇	50µl	150µl	500µl	1.5ml	2.5ml	5ml	10ml
70%乙醇	50µl	150µl	500µl	1.5ml	2.5ml	5ml	10ml
TE Buffer	100µl	200µl	200µl	300µl	500µl	1000µl	1000µl

操作步骤

一、小体积全血操作流程（<600 μ l 处血样；以处理300 μ l 血液量为例）

1. 向300 μ l抗凝剂全血中加入750 μ l Buffer RL(血液的2.5倍体积)，颠倒混匀5次。

注意：为方便操作，可加入与血液等体积的Buffer RL，重复裂解两次。

2. 12,000 rpm(~13,400 \times g)离心1 min。倒弃上清，将离心管倒置在干净的吸水纸上2 min，确保沉淀在管中（此步骤应小心操作，为避免沉淀被倒出，推荐使用尖底离心管）。

注意：在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁清的回流。

3. 按前表配制Buffer WL与Proteinase K的混合液。

注意：此混合液最好现用现配，并在配好后1h之内用完。

4. 加入150 μ l Buffer WL(0.5倍血液体积)与Proteinase K的混合液，立即涡旋混匀至溶液无团块。

注意：当处理多个样品时，加入液缓Buffer WL与Proteinase K的混合液后要立刻涡旋混匀，不要等所有的样品加完后再涡旋振荡。

5. 65 $^{\circ}$ C水浴10min，其间颠倒混匀数次。

注意：随着蛋白的消解，溶液的颜色从红色变为黄绿色。

6. 加入150 μ l异丙醇，颠倒充分混匀至出现丝状或簇状基因组DNA。

注意：与异丙醇完全混合对于沉淀DNA非常重要，应该仔细观察。对于白细胞数目很少的样品，DNA沉淀可能看不到，此时应该至少颠倒离心管20次确保沉淀完全。

7. 12,000 rpm(~13,400 \times g)离心5 min，倒弃上清。将离心管倒置在干净的吸水纸上，确保沉淀在管中。

注意：在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清。如果样品的白细胞数量足够多，可以看到白色的DNA沉淀。

8. 加入150 μ l 70%乙醇，涡旋振荡5 sec，12,000 rpm(~13,400 \times g)离心2 min，倒弃上清。

9. 重复操作步骤8。

10. 将离心管倒置在干净的吸水纸上停留至少5 min，确保沉淀在管中。

注意：在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

11. 空气干燥DNA沉淀直至所有的液体挥发干净（至少5 min）。

注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。但是要避免过分干燥DNA沉淀，因为过于干燥的DNA很难溶解。

12. 加入200 μ l Elution Buffer，低速涡旋5 sec，65 $^{\circ}$ C加热10 min-1 h溶解DNA，其间轻弹数次助溶。

注意：如果DNA没有完全溶解，可室温过夜。如果使用少量的Elution Buffer，孵育时间可能需要延长。

二、中量全血操作流程（1-15ml处血样；以处理5ml血液量为例）

1. 向5ml抗凝剂全血中加入5ml Buffer RL，颠倒5次。600 rpm (~2,000 \times g)离心2 min，倒弃上清；
2. 再向其加入7.5 ml Buffer RL，颠倒混匀5次，3,600 rpm(~2,000 \times g)离心2 min，倒弃上清，将离心管倒置在干净的吸水纸上停留2 min，确保沉淀在管中（此步骤应小心操作，为避免沉淀被倒出，推荐使用尖底离心管）。

注意：在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁清的回流。

3. 按前表配制Buffer WL与Proteinase K的混合液。

注意：此混合液最好现用现配，并在配好后1h之内用完。

4. 加入2.5ml Buffer WL(0.5倍血液体积)与Proteinase K的混合液，立即涡旋混匀至溶液无团块。
注意：当处理多个样品时，加入液缓Buffer WL与Proteinase K的混合液后要立刻涡旋混匀，不要等所有的样品加完后再涡旋振荡。

5. 65 $^{\circ}$ C水浴10-30min，其间颠倒混匀数次。

注意：随着蛋白的消解，溶液的颜色从红色变为黄绿色。

6. 加入2.5ml异丙醇，颠倒充分混匀至出现丝状或簇状基因组DNA。

注意：与异丙醇完全混合对于沉淀DNA非常重要，应该仔细观察。对于白细胞数目很少的样品，DNA沉淀可能看不到，此时应该至少颠倒离心管20次确保沉淀完全。

7. 3,600 rpm(~2,000 \times g)离心8 min，倒弃上清。将离心管倒置在干净的吸水纸上，确保沉淀在管中。

注意：在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清。如果样品的白细胞数量足够多，可以看到白色的DNA沉淀。

8. 加入2.5ml 70%乙醇，荡5 sec，3,600 rpm(~2,000 \times g)离心3 min，倒弃上清。

9. 重复操作步骤8。

10. 将离心管倒置在干净的吸水纸上停留至少5 min，确保沉淀在管中。

注意：在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

11. 空气干燥DNA沉淀直至所有的液体挥发干净（至少5 min）。

注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。但是要避免过分干燥DNA沉淀，因为过于干燥的DNA很难溶解。

12. 加入500 μ l Elution Buffer，低速涡旋5 sec，65 $^{\circ}$ C加热10 min-1 h溶解DNA，其间轻弹数次助溶。

广州捷信斯生物科技有限公司

地址：广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话：020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB: www.gbcbio.cn