

(DP304) 血液/组织/细胞基因组DNA提取试剂盒操作指南

——抗凝全血(300 μ l ~1ml)

天根生化科技（北京）有限公司

版本号：20170328

实验准备

1. 抗凝血 300 μ l~1ml 抗凝全血
2. 自备试剂：无水乙醇；红细胞裂解液（目录号：RT122）；
3. 移液器及配套无菌枪头（200 μ l，1ml）；1.5 ml 离心管
4. 涡旋振荡器 金属浴/水浴 台式离心机



备注：本实验以人血为例，如提取哺乳动物全血可以用此流程，如果禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液，红细胞有核细胞，因此处理量为5-20 μ l，加缓冲液GS补足200 μ l；当处理血样为血凝块，可选择液化柱CX1（TIANGEN，RK165）（需自备）对血凝块进行液化处理。

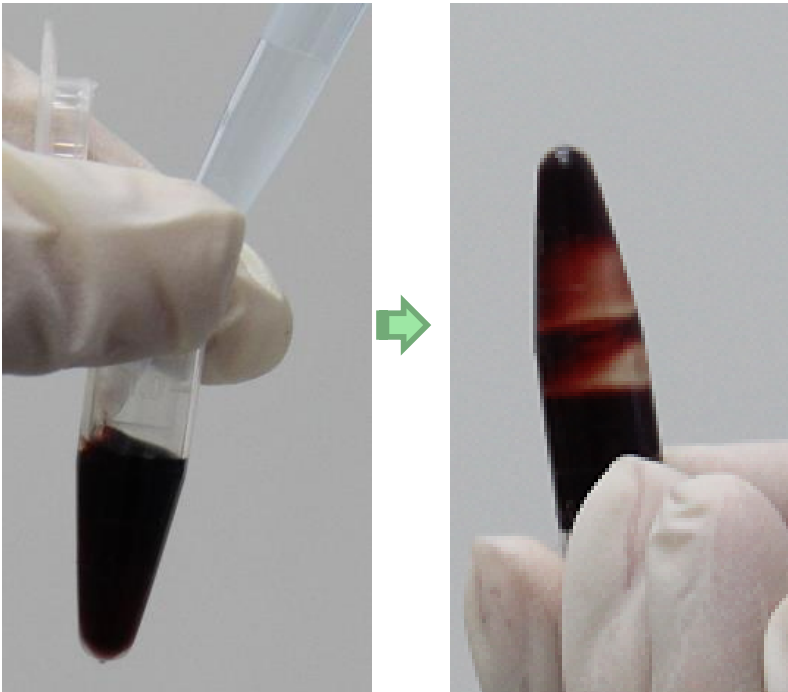
实验准备-试剂盒准备

使用前先在漂洗液PW和GD中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。



Step 1

加入3倍体积红细胞裂解液



颠倒混匀，室温放置5 min，
期间再颠倒混匀几次。

10000 rpm (~11,500 × g) 离心1 min 吸去上清，



留下白细胞沉淀，
加200 μ l 缓冲液GA，振荡至彻底混匀。

Step 2



加入200 μ l缓冲液GB和 20 μ l Proteinase K，充分颠倒混匀

Step 3



70°C放置10 min，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

Step 4



加入200 μl 无水乙醇，充分振荡混匀15 sec，此时可能会出现絮状沉淀，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

Step 4



将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CB3中



12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心30 sec, 倒掉收集管中的废液,将吸附柱CB3放入收集管中

Step 5



12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心30 sec,
倒掉收集管中的废液,
将吸附柱CB3放入收集管中。

向吸附柱CB3中加入500 μ l缓冲液GD

Step 6



12,000 rpm (~13,400 × g) 离心 30 sec,
倒掉收集管中的废液,
将吸附柱CB3放入收集管中。

向吸附柱CB3中加入600 μl 漂洗液PW
(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)

Step 7 重复操作步骤6。

Step 8

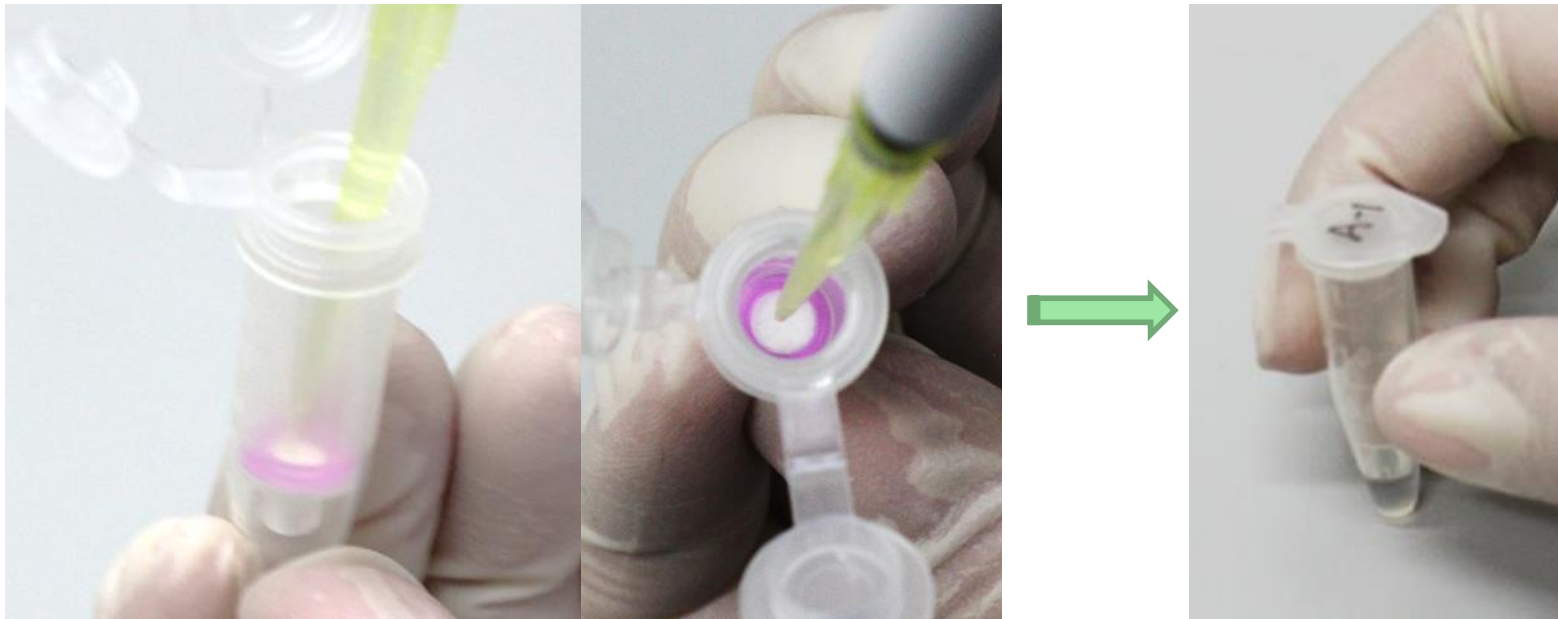


12,000 rpm (~13,400 × g) 离心 2 min, 倒掉废液。

吸附柱CB3室温放置 2 min
彻底晾干吸附材料中残余
的漂洗液。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

Step 9



将吸附柱CB3转入新的1.5 ml离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加50-200 μ l 洗脱缓冲液TE，室温放置2 min，12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，将溶液收集到离心管中。