Cat. No.: B2010 Store at: RT



描述:该试剂盒是目前已知的从人(哺乳动物等)抗凝全血样本中,提取基因组 DNA 最快的方法,整个用时在 5min内完成。样本用量少(仅需 150 μl),提取效率高(通常可获得 2.5-5 μg 的总产量),获得的基因组 DNA 浓度约 30~60 ng/μl。应用本试剂盒获取的 DNA 纯度高,A260/A280 通常为 1.7-1.9。应用本试剂盒提取的 DNA 可直接用于限制性酶切反应、PCR、文库构建、Southern杂交等多种分子生物学实验。

组分

组分	4T	50T
Fast Blood gDNA11	0.25 ml	3 ml
Fast Blood gDNA12	1 ml	12 ml
Fast Blood gDNA13	0.75 ml	9 ml
Washing Buffer(含乙醇)	5 ml	55 ml
Nuclease Free H ₂ O	0.5 ml	6 ml
吸附柱芯(NP30)	4 套	50 套
2 ml 吸附柱外套管	4 套	50 套
1.5 ml 收集管	4 套	50 套

注意事项与准备工作:

- 1.1 自备试剂:异丙醇或无水乙醇。
- 1.2 Washing Buffer 中含有 70%乙醇,使用时远离火源。
- 1.3 Fast Blood gDNA11-12-13 溶液有强烈的腐蚀性,使用时务必做好防护,防止灼伤皮肤和眼睛。如有发生,立即用大量的清水冲洗,并就医。溶液如有结晶或析出,可于水浴锅 56 ℃ 放置 2~3min 后,即可使用。
- 1.4 整套吸附柱的准备:提前将吸附柱芯放入到 2 ml 吸附柱外套管中,待用。
- 1.5 室温避光保存,有效期为2年。

操作方法

- 2.1 在 1.5 ml EP 管底部加入 50 μ l 的 Fast Blood gDNA11 溶液,然后加入 150 μ l 的人抗凝全血(样本不足 150 μ l 时,用 ddH₂O 补足),旋涡混合 10s。随后加入 200 μ l 的 Fast Blood gDNA12。盖上管盖,用旋涡仪剧烈混合 15s。观察样品是否混合均匀,如果未混合均匀,可再次旋涡 10s。
- 2.2 打开管盖,向上述溶液中加入 150 μl 的 Fast Blood gDNA13 溶液,盖上管盖,用旋涡混合仪,剧烈混合 10s。
- 2.3 将 1.5 ml EP 管放入离心机,13000rpm 离心 1min(以下离心步骤均按照此转速使用)。此时,血红蛋白会紧密的贴合沉淀在 EP 管底部。将上清液(约 450 μl)直接倒入到整套吸附柱芯中。

注意: 勿将蛋白沉淀倒入, 并保持吸附柱管盖处于打开状态。

- 2.4 向吸附柱芯的溶液中,加入 200 μl 的异丙醇 (此时总体积约 650 μl),盖上吸附柱管盖,上下混合 2-3 次。
- 注意: 此步骤务必将异丙醇与上清液混合均匀后,再离心。 当采用无水乙醇时产率下降约 15%。
- 2.5 将吸附柱放入离心机中,离心 10s。将外套管中的过柱 液再次倒入到吸附柱芯中,离心 10s(再次过柱,会提高产量 25%,对产量要求不高的情况下,可忽略此步骤)。
- 2.6 倒掉外套管中的过柱液,此时 DNA 已经吸附在柱芯上。 向吸附柱芯中加入 500 µl Washing Buffer,盖上管盖,并上 下颠倒 2~3 次(进行柱芯及管壁洗涤),放于离心机中,离 心 10s。倒掉外套管中的废液。并重复此洗涤步骤一次。
- **2.7** 将全套吸附柱重新放回离心机,空离心 **1**min,将吸附柱 芯残留的乙醇彻底甩干。
- 2.8 将吸附柱芯从 2ml 吸附柱外套管中取出,并放入到新的 1.5 ml 收集管中,向吸附柱芯中加入 $60~100~\mu l$ 的 Nuclease Free H_2O ,离心 1min,洗脱液即为基因组 DNA,冷冻保存。通常 DNA 的浓度为 $30~60~ng/\mu l$, OD260/280 约 1.7~1.9.