天净沙系列

CAT#:120720-50 CAT#:120720-250

常温运输和保存



柱式冻存血液 DNAout

Column Frozen Blood DNAOUT

使用手册 V1.0

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506 网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点

血液 DNA 是重要的研究材料,但是血液 DNA 在常温下存放的时间很短, 因此很多血液样品都是冻凝存放。由于冻存过程中形成的冰晶会刺破细胞膜,释 放出 DNA,因此从冻存血液中高效提取 DNA 一直是个棘手的问题。本产品就 是北京天恩泽开发的专门用于从冻存血液中提取 DNA 的试剂盒,它具有下列特 点:

- 1. 适用于各种动物血液,包括禽类和昆虫。
- 2. 微量提取,每次可处理 400 μL 血液。
- 3. DNA 完整性好, 纯化后长度在 20-50 Kb 之间。
- DNA 纯净, OD260/OD280 在 1.8-2.0 之间,可直接用于 PCR、酶切、 杂交等实验。DNA 产量一般在 10 μg/mL 血液。
- 5. 操作简单,整个过程约20分钟,室温操作,适合大规模样品处理。

规格及成分

| 成 分 | 编 号 | 50 次 大纸盒包装 | 250 次 大纸盒包装 |
|-------------|---------|---------------|----------------|
| 溶液 A | 120720A | 20 mL | 100 mL |
| 溶液 B | 120720B | 20 mL | 100 mL |
| 溶液 C | 120720C | 100 mL | 500 mL |
| 离心吸附柱 | 60911 | 50 套 | 250 套 |
| 通用洗柱液 | 60408 | 50 mL | 250 mL |
| DNA 洗脱液 2.0 | 111205 | 10 mL | 50 mL |
| 使用手册 | | 1 份 | |

运输及保存

常温运输和保存,有效期一年。

自备试剂

氯仿

使用方法

- 1. 从-20℃或更低的冰箱中取出血液样品,室温下静置融化。
- 将 400 μL 解冻的血液转移到一个 1.5 mL 的塑料离心管中,加入 400 μL 溶液 A,充分震荡混匀。如果是禽类血液,则少加 10 倍,只加 40 μL。
- 3. 在混合液中加入 400 μL 溶液 B 和 200 μL 氯仿 (自备),振荡 1 分钟。由于离心管比较满,所以需要确保管底溶液转动起来,否则只是液面振动而已。
- 4℃12000 g 离心 10 分钟,小心将上清转移至一新的 1.5 mL 塑料离心管中。注意:最好不要室温离心,如果室温离心,则离心后部分样品的中间白色层可能会很厚,只能得到很少的上清。
- 5. 将约 0.7-0.8 mL 上清转移到 10-15 mL 塑料离心管中 (不要使用玻璃离心

管,否则 DNA 会吸附到管壁上。常用的培养提质粒用的细菌的培养管即可)。

- 加入 2.5 倍上清体积的溶液 C (2 mL), 立即摇晃混匀。
- 将混合液分多次转移到离心吸附柱中,每次 0.7 mL 左右,转移后静置 2-5 分钟,以使 DNA 与膜充分结合,然后室温 12000 g 离心 30 秒,弃收集管 中的废液,然后再加入 0.7 mL,重复上述操作,直到全部混合液挂柱。
- 在离心吸附柱中加入 0.7 mL 通用洗柱液, 室温 12000 g 离心 30 秒, 弃收 集管中的废液。
- 在离心吸附柱中再加入 0.3 mL 通用洗柱液, 室温 12000 g 离心 30 秒, 弃 收集管中的废液。
- 10. 室温 12000 g 离心 30 秒, 去尽残留液体(此步骤十分重要, 不要省略, 否则残留的含乙醇的通用洗柱液将抑制后续的酶反应)。
- 11. 将离心吸附柱置于一新的 1.5 mL 塑料离心管中, 加入 50 μL DNA 洗脱液 2.0, 室温放置 2 分钟。如果将 DNA 洗脱液 2.0 在 65℃预热后再使用,洗 脱 DNA 的效果更佳。
- 12. 室温 12000 g 离心 30 秒,离心管底部溶液即 DNA 溶液,可立即使用或 -20℃长期保存。
- 13. 本产品所用离心吸附柱吸附能力比较强,如果再次用 DNA 洗脱液 2.0 洗脱, 还能洗脱下一些血液 DNA。

疑难解答

- Q: 保存血液样品时温度越低越好吗?
- A: 不是。Tegelstrom 曾经比较了分别在-70 $^{\circ}$, -20 $^{\circ}$, 4 $^{\circ}$ 保存了 6 个月的蛙 血,发现保存温度越低,血液 DNA 的断裂越严重(详见 Tegelstrom, 1989. Cold room Storage of blood may be better than storage at -70°C. Fingerprint News, 4:5-6).
- Q: 本产品是否可以用于放量操作?
- A: 可以在大的离心管中进行放量操作,如每次处理 5-100 mL 血液,只是客户 需要单独购买红细胞裂解液,并按比例增加溶液 A 和溶液 B 的用量。
- Q: 冷冻血液为何 DNA 产量很低?
- A: 冷冻过程中形成的冰晶刺破了细胞膜和细胞核膜,红细胞裂解液处理时释放 的 DNA 将进入上清并丢失, 所以最后得到的 DNA 是没有被冰晶刺破的细胞 的 DNA。

关联产品 | 柱式血液 DNAout (CAT#: 60306)