



Blood DNA Midi Kit

Cat.No.DE-05121

For genomic DNA purification from whole blood using 1-5 mL blood

For research use only

Store at room temperature



目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
基因组 DNA 的应用	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
DNA-Only Column 特性	6
基因组 DNA 提取得率和纯度	7
基因组 DNA 片段大小	7
注意事项	7
操作前准备事项	8
实验材料和设备	8
自备试剂	8
安全性	8
操作指南	9
● 操作步骤	9
DNA 浓度及纯度测定	10
快速操作示意图	11
问题分析指南	12

产品介绍

由于血液样本中含有大量的红细胞以及血小板细胞等，使得血液的处理比较麻烦，而一般方法提取到的血液基因组 DNA 纯度不高，含量太低。本试剂盒采用全新的 Foregene Protease Plus 以及独特的 BL1、BL2 缓冲体系，可以在最短时间内完全消化抗凝血液和凝血样本，从而最大程度上避免了 DNA 的降解以及获得最大量的基因组 DNA。快速的血液处理系统，简便的离心柱操作，大大简化了血液基因组的提取，使得 40min 内即可得到高质量、高纯度的基因组 DNA。

本试剂盒离心柱采用的 DNA-only 硅胶膜为本公司特有新型材料，高效、特异吸附 DNA，可最大限度的去除 RNA、杂质蛋白、离子及细胞中其他有机化合物。获得的 DNA 片段大，纯度高、质量稳定可靠，一个离心柱的最大承载量为 80 μ g DNA。获得的 DNA 可用于酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等分子生物学实验。

试剂盒单次可以处理最多 5 mL 血液，获得足够量的高纯度基因组 DNA。

产品特点

- ◆ 无 RNA 酶污染：试剂盒提供的 DNA-Only Column 使得实验过程中无需额外添加 RNA 酶即可去除基因组 DNA 中的 RNA，避免实验室遭受外源 RNA 酶污染。
- ◆ 速度快：Foregene Protease Plus 具有比同类蛋白酶更高的活性，消化组织样本速度快；操作简单，基因组 DNA 提取操作在 40 分钟内即可完成。
- ◆ 方便：离心操作均在常温，无需 4°C 低温离心或乙醇沉淀 DNA。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：提取获得的基因组 DNA 片段大、无 RNA、无 RNA 酶、离子含量极低，能满足各种实验的要求。

试剂盒应用

适用于新鲜或冻存的抗凝全血基因组 DNA 提取纯化。

基因组 DNA 的应用

Blood DNA Midi Kit 纯化获得的基因组 DNA 纯度高，可用于常规分子生物学操作，如：酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等实验。

产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的血液基因组 DNA 提取试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

试剂盒内容

Blood DNA Midi Kit 血液基因组 DNA 中量提取试剂盒	
试剂盒组成	DE-05121
	50 T
Buffer BL1	25 mL
Buffer BL2	25 mL
Buffer DC	500 mL
Buffer PW	25 mL
Buffer WB1	15 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease Plus	1 mL × 2
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	40-50 min (24 个样品)
离心机	台式离心机	样本酶解物分离	离心分离
离心柱液体盛装量	800 µL	纯化柱 DNA 承载量	80 µg
洗脱体积	100-200 µL	血液样本处理量	1-5 mL

储存条件

- ◆ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下, 可保存 24 个月; 如需保存更长时间可置于 2–8°C。

注意: 若低温保存, 溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟, 以溶解沉淀, 混匀后再使用。

- ◆ Foregene Protease Plus 溶液具有独特配方, 常温保存长期(3 个月)具有活性; 在 4°C 保存, 其活性和稳定性会更好, 因此建议将其置于 4°C 保存, 切记不能置于 -20°C 保存。

试剂盒组分信息

- ◆ Buffer DC：裂解血液中的红细胞。
- ◆ Buffer BL1：提供样本酶解环境。
- ◆ Foregene Protease Plus：在 Buffer BL1 的环境下酶解血液样本。
- ◆ Buffer BL2：失活 Foregene Protease Plus，并提供 DNA 上柱环境。
- ◆ Buffer PW：去除 DNA 中的蛋白质、RNA 等杂质。
- ◆ Buffer WB1：去除 DNA 中的残留的盐离子。
- ◆ Buffer EB：洗脱纯化柱膜上的 DNA。
- ◆ DNA-Only Column：特异吸附裂解产物中的基因组 DNA。

DNA-Only Column 特性

DNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	80 µg
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800 µL
最大DNA片段(Longset DNA fragment)	23 kb
最小洗脱体积(Minimum elution volume) *	100 µL
最佳样本选取(Selection of samples)	新鲜的抗凝全血
样本最大初始量(Maximum amount of starting material)	5 mL

*：100 µL 的最小洗脱体系是在兼顾 DNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 DNA 的产量，可以适当增加洗脱液体积；如果为了提高纯化得到的 DNA 浓度，在牺牲一部分 DNA 得率的前提下，适当的减少洗脱液体积，比如采用 50 µL 的洗脱体系，以期得到更高浓度的 DNA。

基因组 DNA 提取得率和纯度

血液基因组 DNA 提取得率与组织的来源、保存条件、保存时间、用量等因素相关，所得基因组 DNA 纯度均满足常规分子生物学实验操作，其 OD_{260/280} 在 1.7-1.9 之间。

基因组 DNA 片段大小

血液基因组 DNA 提取试剂盒是采用硅胶膜柱分离纯化多种样本来源的基因组 DNA，纯化获得的基因组 DNA 片段大小均在 23 kb 附近。

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ◆ 建议尽量使用 EDTA 作为抗凝剂。
- ◆ 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且降低提取得率。
- ◆ 试剂盒使用前，仔细检查 Buffer BL1、Buffer BL2 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ◆ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB1 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB1 在使用前分别添加 60 mL 无水乙醇(DE-05121)。
- ◆ 洗脱体积：Buffer EB 不应少于 100 μ L，否则会影响 DNA 产量。
- ◆ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ◆ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。血液基因组 DNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的完整信息和正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

实验材料和设备

- ◆ 抗凝血液样本。
- ◆ 1.5 mL 或 2 mL、15 mL 无菌离心管。
- ◆ 台式离心机($\geq 13,400 \times g$)、65°C水浴或金属浴、移液器、涡旋仪等。

自备试剂

- ◆ 无水乙醇

安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医学、食品及化妆品等用途。
- ◆ 使用化学品时，穿戴合适的实验服，手套，防护眼镜等。
- ◆ Buffer BL2、Buffer PW 含有胍盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer WB1 含无水乙醇：易燃。
- ◆ Foregene Protease Plus：增敏剂，刺激性。

操作指南

血液基因组 DNA 提取试剂盒提供了一种快速处理全血，纯化基因组 DNA 的方法，请严格按照血液基因组 DNA 提取操作步骤进行相关实验。

材料取用说明

- ❖ 无核抗凝血液：单次处理，用量请勿超过 5 mL。
- ❖ 有核抗凝血液：单次处理，用量请勿超过 0.5 mL。

操作步骤 (请严格按照本操作说明进行相关实验操作)

使用前请先在 Buffer WB1 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 样品处理

1a 无核红细胞抗凝血液：往 15 mL 离心管中加入 **1-5 mL** 血液样本，加入 **2 倍** 体积的 **Buffer DC**，上下颠倒混匀，4,000 rpm 离心 10 min，小心倒掉上清，再加入 **500 μ L Buffer BL1**，震荡至彻底混匀，进行步骤 2。

1b 有核红细胞抗凝血液：往 2 mL 离心管中加入 **50-500 μ L** 抗凝血，再加入 **500 μ L Buffer BL1**，进行步骤 2。

2. 向混合液中加入 **40 μ L Foregene Protease Plus**，颠倒混匀，于 **65°C** 放置 **10 min**。

3. 向混合液中，加入 **500 μ L Buffer BL2**，涡旋混匀至分层消失，于 **65°C** 放置 **10 min**，期间涡旋混匀数次，溶液应变清亮。

注意：在温育过程中涡旋混匀数次，以保证细胞裂解充分。若溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可适当延长时间。样本储存条件不佳时，水浴或金属浴处理后颜色可能为深褐色，注意溶液中应无团块等沉淀。

4. 加入 **300 μ L 无水乙醇**，涡旋震荡混匀，此时可能会出现絮状沉淀。

5. 将 **800 μ L** 混合液转移至离心柱 (DNA-Only Column) 中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 min，弃掉收集管中的废液。

注意：如果混合液中出现絮状沉淀，请将沉淀一并转移至离心柱中。

6. 将离心柱放回收集管中，将剩余混合液全部加入离心柱中，12,000 rpm (~13,400 \times g)，

- 离心 1min, 弃掉收集管中的废液。
- 往离心柱中加入 **500 μ L Buffer PW**, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心 30 s – 1 min, 弃掉收集管中的废液。
 - 往离心柱中加入 **700 μ L Buffer WB1**, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心 30 s – 1 min, 弃掉收集管中的废液。
 - 重复步骤 8 一次。
 - 将离心柱放回收集管中, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)空管离心 1 min。
 - 将离心柱移至新的 2 mL 离心管中, 向膜中央悬空滴加 **100 μ L** 已于 65°C预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上, 否则会损失较大体积的洗脱液), 室温放置 5 min, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g) 离心 1 min。再次向膜中央悬空滴加 **100 μ L** 已预热的 **Buffer EB**, 12,000 rpm(\sim 13,400 \times g) 离心 1 min。将两次收集的洗脱液合并。注意: 如果希望提高 DNA 的浓度, 可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中, 12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心 1 min。

DNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的基因组 DNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。
- ◆ DNA 的 OD260 值为 1 相当于大约 50 μ g/mL 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 OD260/280 \approx 1.7-1.9。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer EB, 而使用去离子水, 比值会偏低, 因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

快速操作示意图

中量提取操作示意图



V : 抗凝血液体积 (1-5ml)

预处理 : 1V抗凝血液+2V Buffer DC , 混匀

离心 : 4,000×g ; 10min (弃上清 , 留沉淀)



裂解细胞 : { 500μl Buffer BL1
40μl Foregene Protease Plus } 混匀 , 65°C , 10min



提供上柱环境 : { 500μl Buffer BL2 ; 65°C , 10min
300μl 无水乙醇 , 混匀



上柱吸附血液基因组DNA

离心 : ~13,400×g ; 1min



洗涤1 : 500μl Buffer PW (13,400×g ; 30s-1min)

去蛋白、去RNA



洗涤2 : 700μl Buffer WB1两次 (13,400×g ; 30s-1min)

脱盐



离心 : 空管离心 (13,400 ×g ; 1min)

去残留乙醇



洗脱 : 100-200μl Buffer EB (13,400×g ; 1min)

(添加Buffer EB后室温5min , 再离心以增加洗脱效率)

问题分析指南

以下针对血液样本基因组 DNA 提取中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-83360257 或 E-mail: Tech@foregene.com。

低产量或无 DNA

通常有多种因素会影响基因组 DNA 产量，包括血液样本来源、血液抗凝剂、血液保存、操作等。

提取过程中无法获得基因组 DNA

1. 使用凝血组织提取 DNA。

建议：提取血液基因组 DNA，请采用新鲜血液或保存的抗凝血液(最好使用 EDTA 作为抗凝剂)。

2. 血液用量过少可能导致提取不到相应的基因组 DNA。

建议：对于哺乳动物的血液，建议使用 1 mL 以上抗凝血液血液；禽类等的血液建议采用 50 μ L 以上抗凝血液。

3. Foregene Protease Plus 保存不当，导致其活性降低或失活。

建议：确认 Foregene Protease Plus 保存条件或者更换新的 Foregene Protease Plus 进行酶解反应。

4. 试剂盒保存不当或存放时间太长，导致试剂盒里面某些组分失效。

建议：购置新的 Blood DNA Midi Kit 提取试剂盒进行相关操作。

5. Buffer WB1 没有添加无水乙醇。

建议：确认 Buffer WB1 中添加正确体积的无水乙醇。

6. 洗脱液没有正确滴加到硅胶膜上。

建议：将 65°C 预热的洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5 分钟增加洗脱效率。

提取获得低产量基因组 DNA

1. 血液保存不当或保存时间太长，导致基因组 DNA 降解。
建议：尽量使用新近采集血液进行基因组 DNA 的提取。
2. 样本用量过少，提取到的基因组 DNA 含量会较少。
建议：哺乳类动物的血液中含基因组 DNA 的细胞较少，若需更多的基因组 DNA，建议使用 1 mL 以上的抗凝血进行基因组 DNA 提取。
3. 肝素抗凝血液没有进行 Buffer DC 处理。
建议：肝素本身会对 DNA 的提取有影响，在进行肝素抗凝血基因组 DNA 提取时，请务必按操作说明进行 Buffer DC 预处理。
4. Foregene Protease Plus 保存不当，导致其活性降低或失活。
建议：确认 Foregene Protease Plus 保存条件或者更换新的 Foregene Protease Plus 进行酶解反应。
5. 洗脱液问题。
建议：请使用 Buffer EB 进行洗脱；如果使用 ddH₂O 或其他洗脱液，确认洗脱液的 pH 值在 7.0-8.5 之间。
6. 洗脱液没有正确滴加。
建议：请将洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5 分钟增加洗脱效率。
7. 洗脱液体积太少。
建议：请按说明书上要求使用洗脱液进行基因组 DNA 洗脱，最少不要低于 100 μ L。

提取获得基因组 DNA 纯度低

基因组 DNA 纯度低会导致下游实验的失败或效果不理想，如：酶切不开，PCR 得不到目的基因片段等。

1. 杂蛋白污染、RNA 污染。
分析：没有使用 Buffer PW 洗涤纯化柱；Buffer PW 洗涤纯化柱没有使用正确的离心转速。
建议：在上清液过柱时尽量保证上清液中无沉淀；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。
2. 杂质离子污染。
分析：省略了 Buffer WB1 洗涤纯化柱或者只洗涤了一次，导致残留的离子污染。
建议：务必按说明书使用 Buffer WB1 洗涤 2 次，以尽量去除残留的离子。
3. RNA 酶污染。
分析：Buffer 中添加了外源的 RNA 酶；Buffer PW 洗涤操作不正确，导致 RNA 酶

残留，影响下游 RNA 实验操作，如：体外转录等。

建议：Foregene 系列核酸提取试剂盒无需额外添加 RNA 酶即可去除 RNA，Blood DNA Midi Kit 里面所有试剂均无需添加 RNA 酶；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

4. 乙醇残留。

分析：Buffer WB1 洗涤纯化柱后，没有进行空管离心操作。

建议：按说明书进行正确的空管离心操作。

中国·凡晶 World's Foregene

成都凡晶生物技术有限公司

电话：028-83360257, 028-83361257

E-mail: info@foregene.com

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

