



ELK Biotechnology
For research use only.

Whole Blood DNA MiniPrep Kit

全血 DNA 少量提取试剂盒

货号	规格	储藏/有效期
EP008-50T	50T	室温/一年
EP008-200T	200T	室温/一年

产品介绍

本产品可在 15 - 20 min 内从 100 - 400 μ l 新鲜或是冷冻贮藏的人或动物（抗凝）全血中快速分离纯化基因组 DNA。产品不使用蛋白酶 K，裂解液 Solution BFL1 溶解全血后，经 Solution BFL2 沉淀去除血红蛋白，上清中的基因组 DNA 可结合到纯化柱上，经 Solution RP 和 Wash Buffer 洗涤去除残留在膜上的蛋白与 PCR 抑制物后，基因组 DNA 用 Elution Buffer 洗脱，并可立即用于各种分子生物学实验。

试剂盒组成

成分	EP008-50T	EP008-200T	Storage
Solution BFL1	20 ml	80 ml	RT
Solution BFL2	20 ml	80 ml	RT
Solution RP	30 ml	120 ml	RT
Wash Buffer	60 ml	240 ml	RT
Elution Buffer	10 ml	40 ml	RT
吸附柱 G 柱	50 套	200 套	RT
说明书	1 份	1 份	RT



ELK Biotechnology

For research use only.

一、使用前准备

根据试剂瓶标签上的提示在 Solution RP 和 Wash Buffer 中加入无水乙醇,并在标签的圆框中打勾作好标记。

注: 本操作步骤是为从 400 μ l 全血中提取 DNA 而设计, 如果血液体积小于 400 μ l 大于 200 μ l , 可按比例减少 Solution BFL1 和 Solution BFL2 的用量(注意必须严格按 Solution BFL1: 抗凝全血: Solution BFL2=3:4:3 的体积比进行操作, 否则将导致后续步骤不能进行), 其他试剂用量不变; 如果血液体积小于 200 μ l, 建议在血液中补充生理盐水使血液体积至少至 200 μ l。

脂肪含量高的血液和禽类血液可能不适用。

二、操作步骤

1. 加300 μ l Solution BFL1到1.5 ml离心管中。加入400 μ l抗凝全血, 盖上管盖, **旋涡振荡30 sec。**

注: 某些新鲜的抗凝血全血会由于过于黏稠而裂解难度大, 建议取100-200 μ l 全血使用生理盐水稀释至 400 μ l 使用。

2. 加入300 μ l Solution BFL2, 剧烈摇晃离心管3 - 5次, 再旋涡振荡30 sec混匀。

注: 此步骤将出现大量血红蛋白沉淀。

3. 室温下12000 rpm (~13000 \times g) 离心2 min。可根据实际情况延长离心时间。
4. 将步骤3中的上清液500 μ l 小心的吸入到吸附柱G柱中, **切勿吸取下层沉淀, 以免堵住吸附柱造成提取失败!** 盖上管盖, 室温下12000 rpm (~13000 \times g) 离心1 min。

注: 从某些动物血液中提取DNA, 由于其血红蛋白较少, 离心得到上清液的体积可能会大于纯化柱的容积, 此时建议吸取500 μ l上清液到吸附柱G柱中进行纯化实验, 超过500 μ l 需要延长离心时间。

5. 弃滤液, 将吸附柱G柱放回到收集管中, 在吸附柱G柱中加入500 μ l Solution RP (**使用前请先检查是否加入无水乙醇**), 盖上管盖, 12000 rpm (~13000 \times g) 离心1 min。

注: 纯化柱膜上如残留有少量血色素为正常现象, 可被Solution RP洗去; 若红色残留较多, 此步骤可重复一次; 即使有少量的血色素残留, 对后续DNA得率影响不大。

6. 弃滤液, 将吸附柱G柱放回到废液收集管中, 在吸附柱G柱中加入600 μ l Wash Buffer (**使用前请先检查是否加入无水乙醇**), 盖上管盖, 12000 rpm (~13000 \times g) 离心1 min。

7. 重复步骤6。

8. 弃滤液, 将纯化柱放回到废液收集管中, 室温下12000 rpm (~13000 \times g) 离心2 min。



ELK Biotechnology

For research use only.

9. 将吸附柱G柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-100 μ l Elution Buffer, 室温放置 2-5 min, 12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心1 min, 将溶液收集到离心管中。
注：为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱G柱中，室温放置2 min，12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心2 min。洗脱缓冲液体积不应少于 100 μ l，体积过小影响回收率。Elution Buffer 的 pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做Elution Buffer应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内(可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解。

三、DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段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 应在 OD260 处有显著吸收峰，OD260 值为 1 相当于大约 50 μ g/ml 双链 DNA、40 μ g/ml 单链 DNA。OD260/OD280 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，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。

四、 注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若 Solution BFL1 或 Solution BFL2 中有沉淀，可在 56 $^{\circ}$ C水浴中重新溶解，摇匀后使用。
3. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。

五、 常见问题及解答

1、没有提出基因组或者基因组浓度很低

A、堵柱子：

建议：尽量使用新鲜的血液样本，太黏稠时建议稀释使用；用 Solution RP 多次清洗(过多清洗会造成基因组回收率低，此时建议最多洗涤两次)；部分冻存的样本可能存在溶血及板结的现象,可在第四步时离心时长增加至 10 min；少量堵柱子也可以选择吸掉上面未离心下去的样本，直接进行后续洗涤步骤。

B、基因组提取得率低：

建议：200 μ 血液中所含基因组并不多,跑胶浓度低属于正常现象,若后续需求量较大,可多次提取后浓缩使用。



ELK Biotechnology

For research use only.

C、Solution BFL1、BFL2 中有沉淀未溶解

建议：Solution BFL1、BFL2 在温度较低时会出现沉淀，使用前请检查是否有沉淀生成，如有沉淀生成，请置于 37 °C 温育片刻，待溶液澄清后使用。

D、Wash Buffer 中未按要求加入乙醇

建议：按照说明书要求加入要求量的无水乙醇，使用后旋紧瓶盖，防止乙醇挥发。

E、溶解体积及时间的选择

建议：溶解体积将会影响最终的收获量，溶解体积越大，收获量越高，但是浓度将会降低。请使用试剂盒推荐的溶解体积进行溶解，以保证最好的收获量和浓度。加入 Elution Buffer 后，室温放置 2~5 min，更有利于溶解。