

SQ 血液 DNA 提取试剂盒 II 型

E.Z.N.A.[®] SQ Blood DNA Kit II

货号	D0714-50	D0714-250	D0714-1000	D0714-2000
可处理血液体积	50 mL	250 mL	1000 mL	2000 mL
NL Buffer	140 mL	4 x 175 mL	11 x 260 mL	22 x 260 mL
XL Buffer	30 mL	150 mL	3 x 200 mL	5 x 200 mL
Elution Buffer	50 mL	250 mL	5 x 220 mL	10 x 220 mL
OB Protease	300 μ l	1.4 mL	5.6 mL	11.2 mL
User Manual	✓	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. OB Protease 室温可放置 12 个月，长期保存建议放置 2-8°C；
3. 当贮存温度较低时，Buffer XL 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
4. 本试剂盒仅供科学研究使用。

★ 样品说明

该程序可以使用 EDTA、肝素或柠檬酸盐处理的全血，新鲜或冷冻状态的血液均可。为获得理想产物，强烈建议使用新鲜血液作为提取样品。对于长期储存，建议使用含有 EDTA 抗凝剂，并储存在 -70°C 以下。

冷冻后的血液，建议置于 37°C 中孵育迅速解冻，切勿使用缓慢解冻。

★ 实验前准备（可选）

制备 XL Buffer/OB Protease 混合液：每 1mL 全血样品，需要加入 500mL XL Buffer 和 5 μ l OB Protease。该混合液体仅能存放 10 分钟，建议现配现用。或在提取时分别加入 XL Buffer 和 OB Protease。

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心速度可达 14,000xg 的离心机
- ✓ 无菌无酶的 1.5 或 2mL 离心管 (100-500 μ l 血液用)
- ✓ 无菌无酶的 15 离心管 (0.5-3mL 血液用)
- ✓ 无菌无酶的 50 离心管 (3-10mL 血液用)
- ✓ 异丙醇
- ✓ 70%乙醇
- ✓ 温度可达 37°C和 65°C的孵育装置

★ 方案 A —— 从 100-500 μ l 全血中提取 DNA

试剂用量请参考此表

试剂	血液体积				
血液体积	100 μ l	200 μ l	300 μ l	400 μ l	500 μ l
NL Buffer	250 μ l	500 μ l	750 μ l	1000 μ l	1250 μ l
XL Buffer	50 μ l	100 μ l	150 μ l	200 μ l	250 μ l
OB Protease	0.5 μ l	1 μ l	1.5 μ l	2 μ l	2.5 μ l
异丙醇	50 μ l	100 μ l	150 μ l	200 μ l	250 μ l
70%乙醇	50 μ l	100 μ l	150 μ l	200 μ l	250 μ l
Elution Buffer	100 μ l	200 μ l	200 μ l	200 μ l	200 μ l

1. 加入 200 μ l 全血到干净的 1.5 或 2mL 离心管中，加入 500 μ l NL Buffer (血液样品的 2.5 倍体积)，充分混匀 5 次；
2. 室温 14,000xg 离心 30s，收集沉淀；
3. 弃除上清，把离心管倒置在干净的吸水纸上 2min，小心不要倒出沉淀；
4. 加入 100 μ l XL Buffer/OB Protease 的混合液 (血液样品的 0.5 倍体积) .立即混匀 10s 至沉淀完全打散；
注意：该混合液体仅能存放 10min，建议现配现用。当同时操作多个样品时，请在每个样品加入该混合液后立即涡旋。
5. 短暂离心 5s，收集管盖及管壁的液滴；

6. 65°C 孵育 10-30min;
注意: 样品颜色会从红色转变成深绿色。
7. 加入 100µl 异丙醇 (血液样品的 0.5 倍体积) 至裂解液中, 轻柔颠倒 20-30 次至 DNA 沉淀析出, 肉眼可见线状或块状沉淀;
8. 室温 14,000xg 离心 5min, 会团聚成白色小颗粒。小心吸除上清, 并把离心管倒置在干净吸水纸上;
9. 加入 100µl 70%乙醇, 涡旋 10s 洗涤 DNA 沉淀;
10. 室温 14,000xg 离心 2min, 小心且缓慢地吸除乙醇, 沉淀在该步可能会松散脱落, 请务必小心操作;
11. 倒置于干净吸水纸上, 室温放置 10-15min 至沉淀彻底干燥。若发现沉淀未彻底干燥, 可适当延长空气干燥的时间, 务必让液体完全挥发才可进行下一步;
12. 加入 30-200µl 洗脱液或 Elution Buffer 至沉淀中, 涡旋 1min 让沉淀彻底溶解;
13. 把 DNA 保存于-20°C中。

★ 方案 B —— 从 1-3mL 全血中提取 DNA

试剂用量请参考此表

试剂	血液体积		
	1 mL	2 mL	3 mL
血液体积	1 mL	2 mL	3 mL
NL Buffer	2.5 mL	5 mL	7.5 mL
XL Buffer	0.5 mL	1 mL	1.5 mL
OB Protease	5 µl	10 µl	15 µl
异丙醇	0.5 mL	1 mL	1.5 mL
70%乙醇	0.5 mL	1 mL	1.5 mL
Elution Buffer	0.2 mL	0.2 mL	0.3 mL

1. 加入 2mL 全血到干净的 15mL 离心管中, 加入 5mL NL Buffer (血液样品的 2.5 倍体积), 充分混匀 5 次;
2. 室温 4,000xg 离心 5min, 收集沉淀;
3. 弃除上清, 把离心管倒置在干净的吸水纸上 2min, 小心不要倒出沉淀;

4. 加入 1mL XL Buffer/OB Protease 的混合液（血液样品的 0.5 倍体积）.立即混匀 10s 至沉淀完全打散；
注意：该混合液体仅能存放 10min，建议现配现用。当同时操作多个样品时，请在每个样品加入该混合液后立即涡旋。
5. 65°C 孵育 10-30min；
注意：样品颜色会从红色转变成深绿色。
6. 加入 1mL 异丙醇（血液样品的 0.5 倍体积）至裂解液中，轻柔颠倒 20-30 次至 DNA 沉淀析出，肉眼可见线状或块状沉淀；
7. 室温 4,000xg 离心 5min，会团聚成白色小颗粒。小心吸除上清，并把离心管倒置在干净吸水纸上；
8. 加入 1mL 70%乙醇，涡旋 10s 洗涤 DNA 沉淀；
9. 室温 4,000xg 离心 3min，小心且缓慢地吸除乙醇，沉淀在该步可能会松散脱落，请务必小心操作；
10. 倒置于干净吸水纸上，室温放置 10-15min 至沉淀彻底干燥。若发现沉淀未彻底干燥，可适当延长空气干燥的时间，务必让液体完全挥发才可进行下一步；
11. 加入 100-500 μ l 洗脱液或 Elution Buffer 至沉淀中，涡旋 1min 让沉淀彻底溶解。如沉淀较难溶解，可置于 65°C 中加热；
12. 把 DNA 保存于 -20°C 中。

★ 方案 C ——从 4-14mL 全血中提取 DNA

试剂用量请参考此表

试剂	血液体积				
	4 mL	5 mL	6 mL	7 mL	8 mL
NL Buffer	10 mL	12.5 mL	15 mL	17.5 mL	20 mL
XL Buffer	2 mL	2.5 mL	3 mL	3.5 mL	4 mL
OB Protease	20 μ l	25 μ l	30 μ l	35 μ l	40 μ l
异丙醇	2 mL	2.5 mL	3 mL	3.5 mL	4 mL
70%乙醇	2 mL	2.5 mL	3 mL	3.5 mL	4 mL
Elution Buffer	0.4 mL	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL	0.2 mL

试剂	血液体积				
血液体积	9 mL	10 mL	11 mL	12 mL	13 mL
NL Buffer	22.5 mL	25 mL	27.5 mL	30 mL	32.5 mL
XL Buffer	4.5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
OB Protease	45 μ l	50 μ l	50 μ l	50 μ l	50 μ l
异丙醇	4.5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
70%乙醇	4.5 mL	5 mL	5 mL	5 mL	5 mL
Elution Buffer	1 mL				

- 加入 14mL 全血到干净的 50mL 离心管中，加入 35mL NL Buffer（血液样品的 2.5 倍体积），充分混匀 5 次；
- 室温 4,000xg 离心 5min，收集沉淀；
- 弃除上清，把离心管倒置在干净的吸水纸上 2min，小心不要倒出沉淀；
- 加入 5mL XL Buffer/OB Protease 的混合液。立即混匀 10s 至沉淀完全打散；
注意：该混合液体仅能存放 10min，建议现配现用。当同时操作多个样品时，请在每个样品加入该混合液后立即涡旋。
- 65°C 孵育 15-30min；
注意：样品颜色会从红色转变成深绿色。
- 加入 5mL 异丙醇至裂解液中，轻柔颠倒 20-30 次至 DNA 沉淀析出，肉眼可见线状或块状沉淀；
- 室温 4,000xg 离心 5min，会团聚成白色小颗粒。小心吸除上清，并把离心管倒置在干净吸水纸上；
- 加入 5mL 70%乙醇，涡旋 10s 洗涤 DNA 沉淀；
- 室温 4,000xg 离心 3min，小心且缓慢地吸除乙醇，沉淀在该步可能会松散脱落，请务必小心操作；
- 倒置于干净吸水纸上，室温放置 10-15min 至沉淀彻底干燥。若发现沉淀未彻底干燥，可适当延长空气干燥的时间，务必让液体完全挥发才可进行下一步；
- 加入 100-1000 μ l 洗脱液或 Elution Buffer 至沉淀中，涡旋 1min 让沉淀彻底溶液。如沉淀较难溶解，可置于 65°C 中加热；
- 把 DNA 保存于 -20°C 中。

★ 方案 D —— 从 100-500 μ l 白细胞层中提取 DNA

白细胞层 DNA 含量为同体积全血的 5 倍。用新鲜全血室温 3,000-4,000xg 离心 10min, 可分出三层, 上层为血浆, 中间层为白细胞层, 下层主要是红细胞。小心吸出血浆后可转移出白细胞层, 可按照下述步骤进行 DNA 提取。

试剂用量请参考此表

试剂	样品体积				
	100 μ l	200 μ l	300 μ l	400 μ l	500 μ l
NL Buffer	250 μ l	500 μ l	750 μ l	1000 μ l	1250 μ l
XL Buffer	100 μ l	200 μ l	300 μ l	400 μ l	500 μ l
OB Protease	1 μ l	2 μ l	3 μ l	4 μ l	5 μ l
异丙醇	100 μ l	200 μ l	300 μ l	400 μ l	500 μ l
70%乙醇	100 μ l	200 μ l	300 μ l	400 μ l	500 μ l
Elution Buffer	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l	100 μ l

1. 加入 200 μ l 白细胞层到干净的 1.5 或 2mL 离心管中, 加入 500 μ l NL Buffer (样品的 2.5 倍体积), 充分混匀 5 次;
2. 室温 14,000xg 离心 30s, 收集沉淀;
3. 弃除上清, 把离心管倒置在干净的吸水纸上 2min, 小心不要倒出沉淀;
4. 加入 200 μ l XL Buffer/OB Protease 的混合液 (样品的 0.5 倍体积) 立即混匀 10s 至沉淀完全打散;
注意: 该混合液体仅能存放 10min, 建议现配现用。当同时操作多个样品时, 请在每个样品加入该混合液后立即涡旋。
5. 短暂离心 5s, 收集管盖及管壁的液滴;
6. 65 $^{\circ}$ C 孵育 10-30min;
7. 加入 200 μ l 异丙醇至裂解液中, 轻柔颠倒 20-30 次至 DNA 沉淀析出, 肉眼可见线状或块状沉淀;
8. 室温 14,000xg 离心 2min, 会团聚成白色小颗粒。小心吸除上清, 并把离心管倒置在干净吸水纸上;

9. 加入 200 μ l 70%乙醇，涡旋 10s 洗涤 DNA 沉淀；
10. 室温 14,000xg 离心 2min，小心且缓慢地吸除乙醇，沉淀在该步可能会松散脱落，请务必小心操作；
11. 倒置于干净吸水纸上，室温放置 10-15min 至沉淀彻底干燥。若发现沉淀未彻底干燥，可适当延长空气干燥的时间，务必让液体完全挥发才可进行下一步；
12. 加入 30-200 μ l 洗脱液或 Elution Buffer 至沉淀中，涡旋 1min 让沉淀彻底溶解。如沉淀较难溶解，可置于 65 $^{\circ}$ C 中加热。
13. 把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}$ C 中。

★ 方案 E —— 从 1-2 $\times 10^6$ 培养细胞中提取 DNA

1. 收集细胞后把样品转移到缓冲液中（如 PBS）至 2.0mL 离心管中，对于贴壁细胞来说，可使用胰酶消化；
2. 室温 300xg 离心 5min，去除上清，离心管倒置在吸水纸上 2-3min；
3. 加入 300 μ l NL Buffer，充分混匀 5 次，裂解液会变得浑浊；
4. 加入 300 μ l XL Buffer/OB Protease 的混合液，立即混匀 10s 至沉淀完全打散；
注意：该混合液体仅能存放 10min，建议现配现用。当同时操作多个样品时，请在每个样品加入该混合液后立即涡旋。
5. 短暂离心 5s，收集管盖及管壁的液滴；
6. 65 $^{\circ}$ C 孵育 10-30min；
7. 加入 600 μ l 异丙醇至裂解液中，轻柔颠倒 20-30 次至 DNA 沉淀析出，肉眼可见线状或块状沉淀；
8. 室温 14,000xg 离心 2min，会团聚成白色小颗粒。小心吸除上清，并把离心管倒置在干净吸水纸上；
9. 加入 600 μ l 70%乙醇，涡旋 10s 洗涤 DNA 沉淀；
10. 室温 14,000xg 离心 2min，小心且缓慢地吸除乙醇，沉淀在该步可能会松散脱落，请务必小心操作；
11. 倒置于干净吸水纸上，室温放置 10-15min 至沉淀彻底干燥。若发现沉淀未彻底干燥，可适当延长空气干燥的时间，务必让液体完全挥发才可进行下一步；
12. 加入 30-200 μ l 洗脱液或 Elution Buffer 至沉淀中，涡旋 1min 让沉淀彻底溶解。

如沉淀较难溶解，可置于 65°C 中加热。

13. 把 DNA 保存于 -20°C 中。

★ 产品信息卡



更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司

技术支持：020-32051125

企业 QQ：800848200（人工客服在线）

中文网站：omegabiotek.com.cn

如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源，请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒，我司恕不提供任何质量保证及售后服务。