



Whole blood DNA Extraction kit

Cat. #	Product	Component	Size	Preps / Kit
PG-30015	Whole blood DNA Extraction Kit	1. Buffer 1 2. Buffer 2 3. Buffer 3 4. Buffer 4	650 ml 20 ml 15 ml 20 ml	20 tests
PG-30018	Whole blood DNA Extraction Kit	1. Buffer 1 2. Buffer 2 3. Buffer 3 4. Buffer 4	1300 ml 40 ml 30 ml 40 ml	40 tests

Storage : All reagents should be kept at room temperature

產品內容

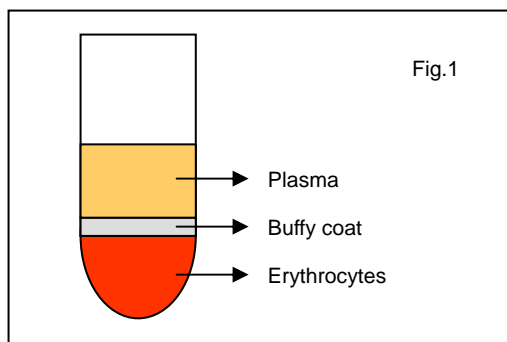
whole blood DNA extraction 是可自全血、細胞及 buffy coat 中分離出 DNA 的改良試劑套組，此組試劑的特色在於不使用 Phenol、Chloroform 及其他有害物質，且只要全血量大於 0.1ml 都適用，每 ml 的全血約可分離出 40ug DNA，DNA 的溶解液不會抑制 PCR 反應，所以分離出來的 DNA 可以直接進行 PCR 的反應，整個操作過程快速方便。

需要而未提供之藥品

- 抗凝劑 (EDTA, citrate, or heparin)
- 95% 乙醇
- 70% 乙醇

Buffy coat 的製備

Buffy Coat 是指血漿與血球之交界處略呈灰白色的那一層，內含各種白血球，可抽取出 DNA 等遺傳物質以作基因方面的研究。全血的檢體必須使用標準的抗凝劑(例如 EDTA、citrate 或 heparin)，於室溫下 300xg 離心 10 分鐘，離心之後會區分出 3 層，最上層的是血漿，中間的部分為 buffy coat，而最下層則為紅血球的部分。小心地將中間層(淺灰白)的部分取至另一個新的離心管中(Fig.1)。



分離DNA的步驟

1. 吸取約 1~2ml的buffy coat移入 15 ml離心管，剩餘樣本冷藏 4℃。(注意:取buffy coat時盡量避免吸到過多紅血球)
2. buffy coat中加入Buffer 1 至總體積為 10 ml並混合均勻。
3. 將離心管靜置 3~5 分鐘後，室溫下 2000 rpm離心 5 分鐘。
4. 去除上清液，再次重覆步驟 2 至 4 兩次。(注意:抽出的白血球若暫不處理，可先冷凍在-20℃)

5. 加入 400 μ l Buffer 2 使白血球完全溶解。
6. 加入 250 μ l Buffer 3 中和並混合完全後，將溶液移到 2 ml 微量離心管。
7. 4℃ 下 10,000 rpm離心 10 分鐘。
8. 將離心後的上清液取出移至另一個新的 2 ml微量離心管。(注意:如果protein pellet尚未完全分離，重新混合均勻並再離心一次)
9. 加入 1.3 ml Ethanol(95%) 至離心管中，上下搖動至白色絲狀DNA析出。
10. 4℃ 下 10,000 rpm離心 5 分鐘。
11. 去除上清液後加入 300 μ l Ethanol(70%)清洗管壁。
12. 於 4℃下 10,000 rpm離心 1 分鐘。
13. 去除上清液，讓 DNA pellet 風乾。
14. 於 4℃下 10,000 rpm離心5分鐘。視DNA多寡加入適量Buffer 4 溶解，並保存在 4℃或-20℃中

Whole blood DNA extraction kit protocol

全血的檢體必須使用標準的抗凝劑
(例如 EDTA、citrate 或 heparin)。

以 300xg 在室溫下離心 10 分鐘，吸取約
1~2ml的buffy coat移入 15 ml離心管。

加入Buffer 1 至總體積為 10 ml並混合均勻，
室溫下靜置 3~5 分鐘。

室溫下 2,000 rpm離心 5 分鐘，去除上清液，再次
重覆步驟 2 至 4 兩次。

加入 400 μ l Buffer 2 使白血球完全溶解。

加入 250 μ l Buffer 3 中和並混合完全後，
將溶液移到 2 ml微量離心管。

4℃ 下 10,000 rpm離心 10 分鐘。

上清液取出移至另一個新的 2 ml微量離心管，加入
1.3 ml Ethanol(95%) 至離心管中，上下搖動至
白色絲狀 DNA 析出。

4℃ 下 10,000 rpm離心 5 分鐘，去除上清液。

加入 300 μ l Ethanol(70%)清洗管壁，於 4℃下
10,000 rpm離心 1 分鐘。

去除上清液，讓 DNA pellet 風乾。視 DNA 多寡
加入適量Buffer 4 溶解，並保存在 4℃或-20℃中。