

Blood DNA System

全血基因组 DNA 提取试剂盒

(溶液型)

目录号: **DNE02**

试剂盒组成

Component	DNE02-01 (50 preps × 0.3 ml)	DNE02-02 (200 preps × 0.3 ml)
10× Buffer RCL (红细胞裂解液)	10 ml	40 ml
Buffer CP1 (细胞核裂解液)	15 ml	60 ml
Buffer CP2 (蛋白沉淀液)	5 ml	20 ml
Buffer EB (DNA 溶解液)	10 ml	25 ml

保存方法

室温 (15-30°C) 保存。

产品介绍

本试剂盒采用独特的缓冲系统,快速提取 300 µl 加入各种抗凝剂的新鲜血液和冻存血液样品基因组 DNA。本缓冲液系统可最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染,提取的基因组 DNA 片段大,产量高,纯度好,稳定可靠。提取的 DNA 适用于各种常规操作,如 PCR、酶切、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等实验。

提取得率 (根据血液样品中白细胞数量的不同, DNA 产量有所差异)

材料	保存时间	提取量	DNA 产量	OD260/OD280
人类全血	4°C一周	300 µl	4-15 µg	1.7-1.9
人类全血	4°C一周	3 ml	50-150 µg	1.7-1.9
人类全血	4°C一周	10 ml	150-500 µg	1.7-1.9

注意事项

1. 本试剂盒为溶液型,可以很容易的**按照比例扩大或缩小每次处理的全血量**。
2. 已加入抗凝剂的血液可在 4°C 储存最多 10 天,为了得到最佳效果,最好使用新鲜血液样品或者 4°C 存放小于 3 天的样品。需长期保存的血液请置于 -70°C 保存,尽量避免反复冻融,否则会导致提取的 DNA 片段小且提取量下降。
3. 低温时如果溶液有沉淀析出,请水浴加热使其溶解后使用。
4. 需自备异丙醇和 70% 乙醇。

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

1. 吸取 **900 μ l 1 $\times$ 红细胞裂解液 RCL** 到一个 1.5 ml 离心管。
注意：使用前先用去离子水将 **10 $\times$ 红细胞裂解液** 稀释 **10 倍** 到 **1 $\times$** 。
2. 将抗凝全血颠倒混匀后（使用前回复到室温），吸取 **300 μ l** 加到上述装有红细胞裂解液离心管中，颠倒混匀 **10 次**，**12,000 rpm（ $\sim$ 13,400 $\times$ g）离心 1 min**，倒弃红色上清。
3. 再加入 **900 μ l 1 $\times$ 红细胞裂解液 RCL**，用移液器将沉淀吸打重悬后 **12,000 rpm 离心 1 min**，倒弃红色上清，留下管底白色沉淀和残留的大约 **10 μ l** 上清。
4. 涡旋振荡 **15 s** 重悬白细胞核团，使其充分分散（**重要**），有助于下一步细胞核裂解。
5. 加入 **300 μ l 细胞核裂解液 CP1** 到重悬的白细胞核团，用移液器反复吸打裂解白细胞核团，基因组释放后溶液应带有粘稠感。颠倒旋转离心管数次以确保裂解液和所有白细胞核接触并裂解。
注意：如果还有可见团块，则将溶液 **65 $^{\circ}$ C 孵育 5 min** 直至团块溶解消失。
6. 加入 **100 μ l 蛋白沉淀液 CP2**，在涡旋振荡器上**高速连续涡旋振荡混匀 25 s**，混匀后可能见到一些小的蛋白团块。
7. **12,000 rpm 离心 5 min**，管底可见暗褐色的蛋白沉淀。
8. 小心吸取上清（大约 **300 μ l**）到一个新的 1.5 ml 离心管中。
注意：吸取上清时不要吸到管底和可能漂浮在表面的蛋白沉淀。为避免 **DNA 被蛋白污染**，可剩下少许上清，勿吸取得过于彻底。
9. 加入**等体积室温异丙醇（300 μ l）**，轻轻颠倒混匀 **30 次**或直至白色线状或簇状 **DNA 形成沉淀**。
10. **12,000 rpm 离心 1 min**，在管底可以见到白色的 **DNA 沉淀块**，倒弃上清。
11. 加入 **1 ml 70%乙醇**，涡旋混匀 **5 s**，**12,000 rpm 离心 1 min**，小心倒掉上清（注意不要把 **DNA 沉淀** 倒掉）。将离心管倒置在干净的吸水纸上控干残留乙醇，还可以用枪头小心吸掉管底沉淀周围和管壁上残留的乙醇，空气中晾干 **5-10 min**。
注意：不要过于干燥，否则 **DNA 很难溶解**，也不能残留太多乙醇，否则乙醇可能抑制下游酶切等反应。
12. 加入 **50-100 μ l Buffer EB** 重新水化溶解 **DNA 沉淀**，轻弹管壁混匀，可以放置在 **65 $^{\circ}$ C 温育 30-60 min**，其间不时的轻弹管壁帮助 **DNA 溶解**。也可以在室温或者 **4 $^{\circ}$ C**放置过夜来重新水化 **DNA**。**2-8 $^{\circ}$ C**保存 **DNA**，或者**-20 $^{\circ}$ C**长期保存。

