

## Blood DNA Midi System

# 中量全血基因组 DNA 提取试剂盒

(溶液型)

目录号: **DNE03**

## 试剂盒组成

Component	DNE03 (50 preps × 3 ml)
10× Buffer RCL (10× 红细胞裂解液)	100 ml
Buffer CP1 (细胞核裂解液)	75 ml × 2
Buffer CP2 (蛋白沉淀液)	50 ml
Buffer EB (DNA 溶解液)	20 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 3 ml 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。抽提的 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. 低温时如果溶液产生沉淀,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 9 ml 1× 红细胞裂解液 RCL 到一个 15 ml 离心管。  
**注意：使用前先用去离子水将 10× 红细胞裂解液稀释 10 倍到 1×。**
2. 将抗凝全血颠倒混匀后（使用前回复到室温），吸取 3 ml 加到上述装有 1× 红细胞裂解液离心管中，颠倒混匀 10 次，2,500×g 离心 2 min，倒弃红色上清。
3. 再加入 9 ml 1× 红细胞裂解液 RCL 重复裂解一次，**用移液器将沉淀吸打重悬后** 2,500×g 离心 2 min，吸弃上清，留下管底白色沉淀和残留的大约 50 μl 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 **3 ml 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°C 孵育 5 min 直至团块溶解消失。**
6. 加入 1 ml 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. 2,500×g 离心 5 min，管底可见暗褐色的蛋白沉淀，也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。
8. 小心吸取上清（大约 3 ml）到一个新的 15 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（3 ml），轻轻颠倒混匀 30 次或直至白色线状或簇状 DNA 形成沉淀。
10. 2,500×g 离心 3 min，在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块，倒弃上清。
11. 加入 3 ml 70%乙醇，颠倒几次漂洗 DNA 沉淀和管壁，2,500×g 离心 1 min，小心倒去上清（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，还可以短暂离心后用枪头吸掉管底残留乙醇，空气中晾干几分钟。  
**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 250 μl Buffer EB 重新水化溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁或反复吸打混匀，可以放置在 65°C 温育 10-60 min，其间不时的轻弹管壁帮助 DNA 溶解。也可以在室温或者 4°C 放置过夜来重新水化 DNA。2-8°C 保存 DNA，或者 -20°C 长期保存。



本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。