

B l o o d D N A S y s t e m

全血基因组DNA提取试剂盒

(溶液型)

目录号：A O 3 1 1 2

试剂盒组成

Component	DL1401 (50 T × 0.3 ml)	DL1402 (200 T × 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℃) 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，纯度高，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℃一周	300 μl	4 - 15 μg	1.7 - 1.9
人类全血	4℃一周	3 ml	50 - 150 μg	1.7 - 1.9
人类全血	4℃一周	10 ml	150 - 500 μg	1.7 - 1.9

注意事项

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。

已加入抗凝剂的血液可在4℃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℃存放小于3天的样品。需长期保存的血液请置于-70℃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。

低温时如果溶液有沉淀析出，请水浴加热使其溶解后使用。

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）

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 $\times$ 。

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 (~13,400 $\times$ g) 离心1 min，倒弃红色上清。

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。

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。

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。

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。

12,000 rpm离心5 min，管底可见暗褐色的蛋白沉淀。

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。

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。

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。

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。

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。