

lood DNA Midi System

中量全血基因组DNA提取试剂盒

(溶液型)

目录号：A O 3 1 1 3

试剂盒组成

Component	A O 3 1 1 3 (5 0 T × 3 m l)
1 0 × Buffer RCL (1 0 × 红细胞裂解液)	1 0 0 m l
Buffer CP1 (细胞核裂解液)	7 5 m l × 2
Buffer CP2 (蛋白沉淀液)	5 0 m l
Buffer EB (DNA溶解液)	2 0 m l

保存方法

室温 (1 5 - 3 0 °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 m l 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	OD ₂₆₀ / OD ₂₈₀
人类全血	4 °C一周	3 0 0 μ l	4 - 1 5 μ g	1 . 7 - 1 . 9
人类全血	4 °C一周	3 m l	5 0 - 1 5 0 μ g	1 . 7 - 1 . 9
人类全血	4 °C一周	1 0 m l	1 5 0 - 5 0 0 μ g	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 °C 储存最多 1 0 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 - 7 0 °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。

低温时如果溶液产生沉淀，请水浴加热使其溶解后使用。

需自备异丙醇和 7 0 % 乙醇。

操作步骤 (以下所有离心步骤均在室温下进行)

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×。

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。

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。

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 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℃ 孵育 5 min 直至团块溶解消失。

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。

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。

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。

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。

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。

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。

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℃ 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℃ 放置过夜来重新水化 DNA。2 - 8℃ 保存 DNA，或者 -20℃ 长期保存。