

# 血液基因组 DNA 提取系统(0.1-10 ml)

RelaxGene Blood DNA System



## 产品信息:

试剂盒组成	保存	DL102-01	DL102-02
		可处理 50ml 血液	可处理 200ml 血液
10x 红细胞裂解液	室温	5ml	20ml
细胞核裂解液	室温	50ml	250ml
蛋白沉淀液	室温	20ml	80ml
DNA 溶解液	室温	30ml	60ml

**保存条件:** 本试剂盒在室温储存 18 个月不影响使用效果。

## 产品介绍:

本试剂盒根据全血特点采用几个快速步骤提取基因组 DNA。首先红细胞裂解液裂解去除不含 DNA 的红细胞,细胞核裂解液裂解白细胞释放出基因组 DNA, 然后蛋白沉淀液选择性沉淀去除蛋白,最后纯净的基因组 DNA 通过异丙醇沉淀并重溶解于 DNA 溶解液。

## 产品特点:

- 1.质量稳定, 纯度高, 产量高, OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 典型的比值达 1.7~1.9, 长度可达 50kb-150kb, 可直接用于构建文库、PCR、Southern-blot 和各种酶切反应。
- 2.试剂盒为溶液型, 可按比例放大缩小体系。

## 注意事项:

- 1.环境温度低时细胞核裂解液中某些去污剂成份会析出, 出现浑浊或者沉淀, 可在 37°C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清, 不要剧烈摇晃, 以免形成过量的泡沫。
- 2.蛋白沉淀液可能出现析出和沉淀, 可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解, 如果不能完全溶解, 也不影响使用效果, 直接取用上层溶液即可。
- 3.避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。
- 4.本试剂盒可运用于多种抗凝剂的全血, 如 EDTA、柠檬酸、肝素抗凝血。其中由于肝素抗凝血的白细胞沉淀团很难打散重悬, 影响裂解效果, 建议选用非肝素的抗凝剂收集血液标本。

- 5.为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者4°C存放小于3天的标本，不要使用反复冻融超过3次的标本，否则会严重降低产量。
- 6.不同样品尤其疾病样品中白细胞数量差异可能非常大，因此产量的个体差异也可能非常大。
- 7.血液样品反复冻融，会导致提取的 DNA 片段较小、且提取量下降。所得基因组 DNA 也应尽可能避免反复冻融，以免断裂。

血液样品的储存：

- a) 短期保存：已加入抗凝剂的血液样品可在 2-8°C 储存最多 10 天，对于某些实验例如 Southern 杂交等，需要得到完整全长的基因组 DNA，请将血液样品在 2-8°C 储存不超过 3 天，此时基因组 DNA 的降解程度较轻。
- b) 长期保存：已加入抗凝剂的血液请置于 -70°C 保存（如果提取的是高分子量的 DNA，推荐使用 EDTA 作为抗凝剂）

**自备试剂：** 异丙醇、70%乙醇

**操作步骤：**

**一：小体积全血操作流程：**（以 300 $\mu$ l 血液处理量为例）

1.吸取 900 $\mu$ l 1x 红细胞裂解液（需要先稀释到 1x）到一个 1.5ml 离心管。

**注意：**使用前应该用去离子水将 10x 红细胞裂解液稀释 10 倍到 1x。

2.将抗凝全血（使用前恢复到室温）颠倒混匀后，吸取 300 $\mu$ l 加到上步装有红细胞裂解液的离心管中，颠倒 6-8 次，并倒置轻弹管壁，确保充分混匀。

3.室温放置 10 min（期间应该颠倒轻弹，混匀数次帮助裂解红细胞）。

4.12,000rpm 离心 20 sec，倒弃红色上清，并小心的尽可能多的吸弃上清（注意不要吸到管底的细胞团），留下完整的管底白细胞团和大约 10 $\mu$ l 的残留上清。

**离心后如果仍看到大量红色细胞团，应该再加入红细胞裂解液重悬细胞团后重复步骤 3，4。**

5.涡旋振荡 15 sec，重悬、充分分散白细胞团。

6.加入 300 $\mu$ l 细胞核裂解液到重悬的白细胞，**迅速**有力吹打几次混匀，裂解白细胞。由于基因组 DNA 立刻释放出来，混合物会马上变得十分粘稠，**立刻**停止吹打（以免剪切断基因组 DNA），颠倒旋转离心管 10 次保证裂解液和所有的白细胞接触并裂解。

**如果还有肉眼可见团块，可 65°C 温育 30-60 min（不要超过一小时）至裂解完全。**

7.加入 100 $\mu$ l 蛋白沉淀液后，在**涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 25 sec**。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。

- 8.12,000rpm 离心 5 min。这时候应该可以见到管底暗褐色的蛋白沉淀，也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。
- 9.小心吸取上清（大约 300 $\mu$ l）到一个新的 1.5ml 离心管中。
- 10.加入等体积的室温异丙醇（300 $\mu$ l），轻柔颠倒 30 次混匀或者直到出现棉絮状（丝状）白色 DNA 沉淀。
- 11.12000rpm 离心 5 min，弃上清。
- 12.加入 1ml 70%乙醇后，颠倒混匀，12,000rpm 离心 1 min，在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块，倒弃上清。
- 13.重复操作步骤 12，室温放置数分钟，挥发乙醇。
- 14.加入 100 $\mu$ l DNA 溶解液重新溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65 $^{\circ}$ C 温育 30-60 min（不要超过一小时），期间不时的轻弹管壁帮助重新溶解 DNA。也可以在室温或者 4 $^{\circ}$ C 放置过夜来重新水化 DNA。

## 二、中量全血操作流程：（1-10 ml 血样；以 3 ml 血液处理量为例）

- 1.吸取 9ml 1x 红细胞裂解液到一个 15ml 离心管。

**使用前应该用去离子水将 10x 红细胞裂解液稀释 10 倍到 1x。**

- 2.将抗凝全血（使用前回复到室温）颠倒混匀后，吸取 3ml 加到上步装有红细胞裂解液离心管中，颠倒 6-8 次，并倒置轻弹管壁，确保充分混匀。
- 3.室温放置 10 min（期间应该颠倒轻弹混匀数次帮助裂解红细胞）。
- 4.2,500xg 离心 2 min，倒弃红色上清，并小心的尽可能多的吸弃上清（注意不要吸到管底的细胞团），留下完整的管底白细胞团和大约 50 $\mu$ l 的残留上清。

**离心后如果仍看到大量红色细胞团，应该再加入红细胞裂解液重悬细胞团后重复步骤 3，4。**

- 5.涡旋振荡 15 sec，重悬、充分分散白细胞团。
- 6.加入 3ml 细胞核裂解液到重悬的白细胞，迅速有力吹打混匀，以裂解白细胞。由于基因组 DNA 立刻释放出来，混合物会马上变得十分粘稠，立刻停止吹打（以免剪切断基因组 DNA），颠倒旋转离心管 10 次保证裂解液和所有的白细胞接触并裂解。

**如果还有肉眼可见团块，可 65 $^{\circ}$ C 温育 30-60 min（不要超过一小时）至裂解完全。**

- 7.加入 1ml 蛋白沉淀液后，在涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 25 sec。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。
- 8.2,500xg（可根据需要调整加大离心力）离心 5 min。这时候应该可以见到管底暗褐色的蛋白沉淀，也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。
- 9.小心吸取上清（大约 3ml）到一个新的 15ml 离心管中。

- 10.加入等体积的室温异丙醇（3ml）,轻柔颠倒 30 次混匀或者直到出现棉絮状（丝状）白色 DNA 沉淀。
- 11.垂直放置离心管，让白色 DNA 沉淀自然沉到管底，然后尽可能多的吸弃大部分的上清，注意不要吸到沉淀（或者 12000rpm 离心 5min，弃上清）。
- 12.加入 3ml 70%乙醇后，颠倒混匀,2,000xg 离心 2-3 min,在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块,倒弃上清。
- 13.加入 3ml 70%乙醇,颠倒几次漂洗 DNA 沉淀,2,000xg 离心 1 min，倒去上清（沉淀很松，注意不要把 DNA 沉淀倒掉了），倒置后在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇，还可以用枪头小心吸掉管底沉淀周围和管壁的残留乙醇，空气晾干沉淀几分钟。
- 14.加入 250 $\mu$ lDNA 溶解液重新水化溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65 $^{\circ}$ C温育 30-60 min（不要超过一小时），也可以在室温或者 4 $^{\circ}$ C放置过夜来重新水化 DNA，中间不时的轻弹管壁帮助重新水化 DNA。

BM190307