

版本号: DP121221

# RelaxGene Blood DNA System

## 血液基因组DNA提取系统 (0.1~20ml)

(非离心柱型)

目录号: DP319

### 产品内容

产品组成	DP319-01 (可处理50 ml血液)	DP319-02 (可处理200 ml血液)
细胞裂解液CL(Buffer CL)	125 ml	2 × 250 ml
缓冲液FG(Buffer FG)	30 ml	120 ml
洗脱缓冲液TB(Buffer TB)	30 ml	60 ml
Proteinase K	250 $\mu$ l	1 ml

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8 $^{\circ}$ C。2-8 $^{\circ}$ C保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37 $^{\circ}$ C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

---

## 产品简介

本试剂盒采用独特的缓冲液系统，提取0.1-20 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。

本试剂盒避免使用苯酚、氯仿等有机溶剂，回收的DNA可适用于各种常规操作，如酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

**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 <sub>260</sub> / OD <sub>280</sub>
人类全血	4℃一周	300 μl	3-10 μg	1.7 - 1.9
人类全血	4℃一周	1 ml	4-30 μg	1.7 - 1.9
人类全血	4℃一周	5 ml	100-200 μg	1.7 - 1.9
人类全血	4℃一周	10 ml	200-400 μg	1.7 - 1.9

## 产品特点

量大质优：提取0.1-20 ml各种血液，可获得多达2-400 μg高纯度DNA。

安全可靠：无苯酚、氯仿等有机溶剂的污染。

价廉物美：与同类产品相较，性价比高，纯化得到的DNA样品可长期保存。

**注意事项** 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 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。
2. 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℃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℃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℃保存（**如果提取的是高分子量的DNA，推荐使用EDTA作为抗凝剂**）
3. 所有离心操作均可在室温下完成。

---

## 一、小体积全血操作流程（<600 $\mu$ l血样；以300 $\mu$ l血液处理量为例）

1. 向300  $\mu$ l抗凝剂的血液中加入750  $\mu$ l细胞裂解液CL，颠倒混匀5次。

**注意：**为方便与离心机配套使用，可加入与血液等体积的细胞裂解液CL，重复裂解两次。

2. 12,000 rpm( $\sim$ 13,400  $\times$ g)离心1 min。倒弃上清，将离心管倒置在干净的吸水纸上停留2 min，确保沉淀在管中（此步骤应小心操作，为避免沉淀被倒出，推荐使用尖底离心管）。

**注意：**在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

3. 按照表1配制缓冲液FG与Proteinase K的混合液。

**注意：**此混合液最好现用现配，并在配好后1 h之内用完。

4. 加入150  $\mu$ l缓冲液FG与Proteinase K的混合液，立即涡旋混匀至溶液无团块。

**注意：**当处理多个样品时，加入缓冲液FG和Proteinase K的混合液后要立刻涡旋混匀，不要等所有的样品加完后再涡旋振荡。通常涡旋混匀5sec就足以混匀沉淀，但是有可能痕量的胶状沉淀难以混匀，此时可再次补加缓冲液FG和Proteinase K的混合液（具体补加量见表1），再次涡旋混匀。

5. 65 $^{\circ}$ C水浴10 min，其间颠倒混匀数次。

**注意：**随着蛋白的消解，溶液的颜色从红色变为黄绿色。

6. 加入150  $\mu$ l异丙醇，颠倒充分混匀至出现丝状或簇状基因组DNA。

**注意：**与异丙醇完全混合对于沉淀DNA非常重要，应该仔细观察。对于白细胞数目很少的样品，DNA沉淀可能看不到，此时应该至少颠倒离心管20次确保沉淀完全。

7. 12,000 rpm( $\sim$ 13,400  $\times$ g)离心5 min，倒弃上清。将离心管倒置在干净的吸水纸上，确保沉淀在管中。

**注意：**在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清。如果样品的白细胞数量足够多，可以看到白色的DNA沉淀。

8. 加入150  $\mu$ l 70%乙醇，涡旋振荡5 sec，12,000 rpm( $\sim$ 13,400  $\times$ g)离心2 min，倒弃上清。

9. 重复操作步骤8。

---

10. 将离心管倒置在干净的吸水纸上停留至少5 min，确保沉淀在管中。

**注意：**在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

11. 空气干燥DNA沉淀直至所有的液体挥发干净（至少5 min）。

**注意：**乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。但是要避免过分干燥DNA沉淀，因为过于干燥的DNA很难溶解。

12. 加入200  $\mu$ l缓冲液TB，低速涡旋5 sec，65 $^{\circ}$ C加热10 min-1 h溶解DNA，其间轻弹数次助溶。

**注意：**如果DNA没有完全溶解，可室温过夜。如果使用少量的缓冲液TB溶解DNA，孵育时间可能需要延长。

## 二、中量全血操作流程（1-10 ml血样；以5 ml血液处理量为例）

1. 向5 ml含抗凝剂的血液中加入5 ml细胞裂解液CL，颠倒混匀5次，3,600 rpm( $\sim$ 2,000 $\times$ g)离心2 min，倒弃上清；

2. 再向其中加入7.5 ml细胞裂解液CL，颠倒混匀5次，3,600 rpm( $\sim$ 2,000 $\times$ g)离心2 min，倒弃上清，将离心管倒置在干净的吸水纸上停留2 min，确保沉淀在管中（此步骤应小心操作，为避免沉淀被倒出，推荐使用尖底离心管）。

**注意：**在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

3. 按照表1配制缓冲液FG与Proteinase K的混合液。

**注意：**此混合液最好现用现配，并在配好后1 h之内用完。

4. 加入2.5 ml缓冲液FG与Proteinase K的混合液，立即涡旋混匀至溶液无团块。

**注意：**当处理多个样品时，加入缓冲液FG和Proteinase K的混合液后要立刻涡旋混匀，不要等所有的样品加完后再涡旋振荡。通常涡旋混匀5 sec就足以混匀沉淀，但是有可能痕量的胶状沉淀难以混匀，此时可再次补加缓冲液FG和Proteinase K的混合液（具体补加量见表1），再次涡旋混匀。

5. 65 $^{\circ}$ C水浴10-30 min，其间颠倒混匀数次。

**注意：**随着蛋白的消解，溶液的颜色从红色变为黄绿色。

---

6. 加入2.5 ml异丙醇，颠倒充分混匀至出现丝状或簇状基因组DNA。

**注意：**与异丙醇完全混合对于沉淀DNA非常重要，应该仔细观察。对于白细胞数目很少的样品，DNA沉淀可能看不到，此时应该至少颠倒离心管20次确保沉淀完全。

7. 3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心8 min，倒弃上清。将离心管倒置在干净的吸水纸上，确保沉淀在管中。

**注意：**在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清。如果样品的白细胞数量足够多，可以看到白色的DNA沉淀。

8. 加入2.5 ml 70%乙醇，涡旋振荡5 sec，3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心3 min，倒弃上清。

9. 重复操作步骤8。

10. 将离心管倒置在干净的吸水纸上停留至少5 min，确保沉淀在管中。

**注意：**在极少的情况下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁上清的回流。

11. 空气干燥DNA沉淀直至所有的液体挥发干净（至少5 min）。

**注意：**乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。但是要避免过分干燥DNA沉淀，因为过于干燥的DNA很难溶解。

12. 加入500  $\mu$ l缓冲液TB，低速涡旋5 sec，65°C加热1 h溶解DNA，其间轻弹数次助溶。

**注意：**如果DNA没有完全溶解，可室温振荡过夜。如果使用少量的缓冲液TB溶解DNA，孵育时间可能需要延长。

### 三、大量全血操作流程（10-20 ml血样；以10 ml血液处理量为例）

1. 处理样品：

a. 离心富集有核细胞进行核酸提取：将血样3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心15-20 min，抽弃血浆，取中间白膜层细胞加入到15 ml离心管中，加入10 ml细胞裂解液CL，涡旋混匀10 sec，3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心2 min，倒弃上清。再加入15 ml细胞裂解液CL，涡旋混匀10 sec，3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心2 min，倒弃上清。

---

b. 细胞裂解液CL处理血液标本分次富集有核细胞进行核酸提取：在15 ml离心管中添加细胞裂解液CL和血液样本（比例2.5:1），多次富集进行下游实验。

（例10 ml全血处理方式：在两个15 ml离心管中分别加入5 ml的全血和10 ml细胞裂解液CL,颠倒混匀5次, 3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心3 min, 倒弃上清；再向其中加入2.5 ml细胞裂解液CL, 涡旋混匀10 sec, 混合到一支离心管里, 3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心3 min, 倒弃上清；进行下游操作。）

**注意：细胞裂解液CL处理步骤应小心操作，为避免沉淀被倒出，推荐使用尖底离心管。在极少的情况下细胞裂解液CL处理得到的沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清。**

2. 按照表1配置缓冲液FG与Proteinase K的混合液（比例100:1），对于10-20 ml的全血标本，每个样品需要5 ml缓冲液FG与Proteinase K工作液。

**注意：此混合液最好现用现配，并在配好后1 h之内用完。**

3. 加入5 ml缓冲液FG与Proteinase K的混合液，立即涡旋混匀至溶液无团块。

**注意：当处理多个样品时，加入缓冲液FG和Proteinase K的混合液后要立刻涡旋混匀，不要等所有的样品加完后再涡旋振荡。通常涡旋混匀30 sec就足以混匀沉淀，但是有可能痕量的胶状沉淀难以混匀，此时可再次补加1 ml缓冲液FG和Proteinase K的混合液，再次涡旋混匀。**

4. 65°C水浴30 min，其间颠倒混匀数次。

**注意：随着蛋白的消解，溶液的颜色从红色变为黄绿色。**

5. 加入5 ml异丙醇，颠倒充分混匀至出现丝状或簇状基因组DNA。

**注意：与异丙醇完全混合对于沉淀DNA非常重要，应该仔细观察。应该至少颠倒离心管20次确保沉淀完全。**

6. 离心3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心10 min，倒弃上清。将离心管倒置在干净的吸水纸上，确保沉淀在管中。

**注意：如果得到的团块过于松弛，可以延长离心时间或者增大离心力。**

7. 加入5 ml 70%乙醇，涡旋振荡5 sec，离心3,600 rpm( $\sim 2,000 \times g$ )离心3 min，倒弃上清。

8. 重复操作步骤7。

**注意：如果得到的团块过于松弛，可以延长离心时间或者增大离心力。**

9. 将离心管倒置在干净的吸水纸上停留至少5 min，确保沉淀在管中。

**注意：在极少的情況下沉淀可能会很松弛，所以要缓慢倒上清，将离心管倒置在吸水纸上是为了减少管壁中上清的回流。**

10. 空气干燥DNA沉淀直至所有的液体挥发干净（至少5 min）。

**注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。但是要避免过分干燥DNA沉淀，因为过于干燥的DNA很难溶解。**

11. 加入1 ml缓冲液TB，低速涡旋5 sec，65°C加热1 h溶解DNA，其间轻弹数次助溶。

**注意：如果DNA没有完全溶解，可室温振荡过夜。如果使用少量的缓冲液TB溶解DNA，孵育时间需要延长。**

表1 不同体积血液所需各种缓冲液用量(μl)

	血液体积(μl)						
	100	300	1000	3000	5000	10000	20000
细胞裂解液CL	250	750	2500	7500	12500	25000	50000
缓冲液FG	50	150	500	1500	2500	5000	10000
Proteinase K	0.5	1.5	5	15	25	50	100
100%异丙醇	50	150	500	1500	2500	5000	10000
70%乙醇	50	150	500	1500	2500	5000	10000
缓冲液TB	100	200	200	300	500	1000	1000
补加缓冲液FG和 Proteinase K混合液	10	30	100	300	500	1000	1000

---

# 浓缩国际权威精华， 铸就TIANGEN优秀品质！

**TIANGEN为您提供国际化标准的生物学产品和服务**

- PCR、RT-PCR系列
- 核酸DNA、RNA分离纯化系列
- DNA分子量标准
- 克隆载体、感受态细胞
- 细胞生物学产品
- 蛋白分子量标准
- 蛋白质染色、检测及定量相关产品