

## 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°C一周	300 µl	3-10 µg	1.7 - 1.9
人类全血	4°C一周	1 ml	4-30 µg	1.7 - 1.9
人类全血	4°C一周	5 ml	100-200 µg	1.7 - 1.9
人类全血	4°C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°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）
3. 所有离心操作均可在室温下完成。

8. 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。**

9. 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。**

10. 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CLA	250	750	2500	7500	12500	25000	50000
缓冲液FGA	67	200	667	2000	3333	6667	13333
Proteinase K	0.5	1.5	5	15	25	50	100
100%异丙醇	67	200	667	2000	3333	6667	13333
70%乙醇	100	300	1000	3000	5000	10000	20000
缓冲液TB	100	200	200	300	500	1000	1000
补加缓冲液FGA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

## RelaxGene Blood DNA System 血液基因组DNA提取系统 (0.1-20 ml)

(非离心柱型)

目录号: DP349

### 产品内容

产品组成	DP349-01 (可处理50 ml血液)	DP349-02 (可处理200 ml血液)
细胞裂解液CLA (Buffer CLA)	125 ml	2 × 250 ml
缓冲液FGA (Buffer FGA)	40 ml	160 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	30 ml	60 ml
Proteinase K	250 µl	1 ml

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8°C。2-8°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°C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

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。

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200  $\mu$ l缓冲液TB, 低速涡旋5 sec, 65 $^{\circ}$ C加热20 min溶解DNA, 其间轻弹数次助溶。

**注意:** 如有难溶性物质存在, 可将65 $^{\circ}$ C孵育时间延长至1 h。

## 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CLA, 颠倒混匀20次, 3,600 rpm (~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CLA, 颠倒混匀20次, 3,600 rpm (~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FGA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3.3 ml缓冲液FGA与Proteinase K的混合液, 立即上下剧烈震荡或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FGA和Proteinase K的混合液后要立即上下剧烈震荡或涡旋混匀, 不要等所有的样品加完后再混匀。有可能出现痕量的胶状沉淀难以混匀, 此时可再次补加缓冲液FGA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。

6. 加入3.3 ml异丙醇, 上下颠倒充分50次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。

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

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。

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500  $\mu$ l缓冲液TB, 低速涡旋5 sec, 65 $^{\circ}$ C加热30 min溶解DNA, 其间轻弹数次助溶。

**注意:** 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 (~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CLA, 涡旋混匀10 sec, 3,600 rpm (~2,000 $\times$ g)离心2 min, 倒弃上清。再加入15 ml细胞裂解液CLA, 涡旋混匀10 sec, 3,600 rpm (~2,000 $\times$ g)离心2 min, 倒弃上清。

b. 细胞裂解液CLA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CLA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CLA，颠倒混匀5次，3,600 rpm (~2,000×g) 离心3 min，倒弃上清；再向其中加入2.5 ml细胞裂解液CLA，涡旋混匀10 sec，混合到一支离心管里，3,600 rpm(~2,000×g)离心3 min，倒弃上清；进行下游操作。）

**注意：**细胞裂解液CLA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CLA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FGA与Proteinase K的混合液，对于10-20 ml的全血标本，每个样品需要6.7 ml缓冲液FGA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6.7 ml缓冲液FGA与Proteinase K的混合液，立即上下剧烈震荡或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FGA和Proteinase K的混合液后要立即上下剧烈震荡或涡旋混匀，不要等所有的样品加完后再混匀。有可能出现痕量的胶状沉淀难以混匀，此时可再次补加1 ml缓冲液FGA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6.7 ml异丙醇，上下颠倒混匀50次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。

6. 离心3,600 rpm(~2,000×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10 ml 70%乙醇，涡旋振荡5 sec，离心3,600 rpm(~2,000×g)离心3 min，倒弃上清。

**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。

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

1. 向300 μl抗凝剂的血液中加入750 μl细胞裂解液CLA，颠倒混匀20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CLA，重复裂解两次。

2. 12,000 rpm (~13,400×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FGA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200 μl缓冲液FGA与Proteinase K的混合液，立即上下剧烈震荡或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FGA和Proteinase K的混合液后要立即上下剧烈震荡或涡旋混匀，不要等所有的样品加完后再混匀。有可能出现痕量的胶状沉淀难以混匀，此时可再次补加缓冲液FGA和Proteinase K的混合液（具体补加量见表1），再次涡旋混匀。

5. 65°C水浴10 min，其间颠倒混匀数次。

6. 加入200 μl异丙醇，上下颠倒混匀50次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。

7. 12,000 rpm(~13,400×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300 μl 70%乙醇，涡旋振荡5 sec，12,000 rpm(~13,400×g)离心2 min，倒弃上清。