

版本号: DP1500713

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。

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 ₂₆₀ / OD ₂₈₀
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。

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

1. 向300 μ l抗凝剂的血液中加入750 μ l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 \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 μ l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 min，其间颠倒混匀数次。

6. 加入200 μ l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 \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300 μ l 70%乙醇，涡旋振荡5 sec，12,000 rpm(~13,400 \times g)离心2 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200 μ 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($\sim 2,000 \times g$)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. 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500 μ 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($\sim 2,000 \times g$)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CLA，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CLA，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。

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