



## 全血基因组DNA提取试剂盒 (Whole Blood DNA Extraction Kit)

### 产品说明:

本试剂盒先行裂解红细胞，收取有核细胞，再用DNAVzol提取基因组DNA。适合于提取0.5 ml以上的全血样品，提取方法简单快速，不需酚氯仿抽提或蛋白酶消化，可在40 min完成数个样品的处理。获得的DNA可直接用于Southern杂交，PCR，DNA克隆以及其它相关操作。

### 产品内容与储存方法:

| 名称              | 数量        | 保存条件 |
|-----------------|-----------|------|
| DNAVzol         | 100 ml    | RT   |
| 10xRLB (红细胞裂解液) | 125ml X 2 | RT   |

可作100次0.5~2.5 ml全血的DNA提取。常温运输，室温保存。有效期12个月。

### 所需其它试剂:

使用者需准备75%乙醇和DNA溶解液(双蒸水、TE 缓冲液或8 mM NaOH)。

### 操作方法:

#### 1. 红细胞裂解:

##### 0.5~5 ml全血红细胞的裂解:

- 1) 冻存的抗凝全血先在37℃水浴中快速解冻；4℃存放的抗凝全血也应在37℃水浴复温。同时准备足够的15 ml或50 ml离心管，作相应的标记。
- 2) 用蒸馏水稀释10xRLB至1xRLB，所需1xRLB约为全血总量的10倍体积。取0.5~5 ml全血分别转入标记的离心管，加入9倍体积的1xRLB，盖严，颠倒混匀5次，室温放置5 min，期间可颠倒混匀数次以加速红细胞裂解。
- 3) 室温4000 g离心5 min，倾去液体，管底应可看到白细胞团块。用吸管或加样器吸去管壁和管底剩余液体。如白细胞团块中仍有明显红色，可加1倍（原始全血）体积的1xRLB，重悬细胞团块，按上述步骤重复裂解红细胞，收取白细胞沉淀。

##### 5 ml以上全血红细胞的裂解:

- 1) 抗凝全血室温1500 g离心10 min，用吸管吸出上层血浆与下层红细胞之间的白细胞层。一同吸出的红细胞将在以下步骤中去处。吸出体积可为0.5~1 ml，转入5 ml或15 ml离心管。
- 2) 在吸出的白细胞液中加入3~5倍体积的1xRLB，盖严，颠倒混匀5次，室温放置5 min，期间可颠倒混匀数次以加速红细胞裂解。
- 3) 室温4000 g离心5 min，倾去液体，管底应可看到白细胞团块。用吸管或加样器吸去管壁和管底剩余液体。

#### 2. 裂解白细胞:

每0.5~2.5 ml全血，加入1 ml DNAVzol。用加样器缓缓吹打，使其完全裂解。转移至1.5 ml离心管中。裂解产物应呈澄清的透明粘稠液体。

### 3. DNA沉淀:

在装有裂解物的离心管中加入0.5倍体积的无水乙醇（每1 ml DNAVzol加入0.5 ml无水乙醇），轻轻颠倒混匀5~8次，室温放置2~3 min。室温8,000 g离心8 min，沉淀DNA。

### 4. 清洗DNA:

加入1 ml 75%乙醇至离心管中，颠倒数次以重悬DNA；室温8,000 g离心8 min，沉淀DNA，倾去洗涤液体。再重复清洗1次。

### 5. 溶解:

仔细吸去剩余乙醇，不要完全晾干DNA，加入适量（200~500  $\mu$ l）水或TE 缓冲液，使DNA沉淀溶解。可用吸头缓缓吹打助溶或放置4 $^{\circ}$ C过夜待其自溶，也可用8 mM NaOH 缓冲液使DNA沉淀快速溶解。存放于4 $^{\circ}$ C或-20 $^{\circ}$ C。

## 注意事项:

- 1) 每0.5 ml全血的基因组DNA提取量为10~25  $\mu$ g。
- 2) 肝素抗凝全血提取的DNA对PCR有抑制作用。
- 3) 白细胞沉淀中如有明显血凝块，可用吸头或镊子挑出。
- 4) 用8 mM NaOH缓冲液溶解的DNA，可加入1/10体积0.1 M HEPES（未调pH值）。DNA溶液的pH值应为8.0。