



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

[http:// www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: [real-times@163.com](mailto:real-times@163.com)

## 全血基因组 DNA 小量提取试剂盒 Total Blood DNA Miniprep Kit

### ● 试剂盒内容及保存:

试剂盒组成	RTG2406 (50 次)	贮存方式
缓冲液 DL1	16 ml	常温
缓冲液 DL2	16 ml	常温
去蛋白液 GD (浓缩液)	18 ml	常温
漂洗液 PW (浓缩液)	25 ml	常温
洗脱缓冲液 EB	15 ml	常温
吸附柱 CG	50 个	常温
收集管 (2 ml)	50 个	常温
说明书	1 份	

### ● 储存条件和效期:

该试剂盒常温贮存，常温运输。开封后有效期一年。

### ● 产品简介:

全血基因组 DNA 小量提取试剂盒可从 200-400  $\mu$ l 体积新鲜、冷冻或抗凝全血样本中快速分离纯化基因组 DNA。该试剂盒可以在 30 分钟内完成单个或多个样品的操作。提取过程无需使用蛋白酶 K 消化，不需要酚氯仿抽提，也无需耗时的异丙醇沉淀等过程。

使用该试剂盒提取到的 DNA 可以用于 PCR，Southern 杂交，酶切消化等实验。

### ● 准备工作:

1. 准备无水乙醇；1.5 ml 离心管；离心机
2. 按照标签所示在去蛋白液 GD 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇，混匀后盖紧瓶盖后常温贮存备用。
3. 每次使用前请检查缓冲液 DL1 和 DL2 是否有沉淀生成，如果出现沉淀，37 $^{\circ}$ C 温浴至沉淀溶解后再使用。

### ● 标准操作步骤:

如非指出，所有离心步骤均为使用台式离心机在常温下离心。

注意：以下方案适用于 400  $\mu$ l 体积新鲜或冷冻血液样本。如果使用低于 400  $\mu$ l 的全血样本，必须按比例减少缓冲液 DL1 和 DL2 的用量或者用 1 $\times$ PBS 溶液补齐至 400  $\mu$ l，严格按照缓冲液 DL1：全血：缓冲液 DL2=3：4：3 体积比进行操作，否则将导致后续操作无法进行。

1. 加入 300 $\mu$ l 缓冲液 DL1 于 1.5 ml 离心管中。
2. 加入 400  $\mu$ l 抗凝全血，漩涡剧烈震荡 30 秒。注：如果低于 400  $\mu$ l 血液，用 1 $\times$ PBS 补齐到 400  $\mu$ l。
3. 加入 300 $\mu$ l 缓冲液 DL2，剧烈摇动离心管 3-5 次，漩涡剧烈震荡 30 秒-60 秒。  
**注：加入缓冲液 DL2 后，会出现大量血红蛋白沉淀，必须剧烈震荡。**
4. 12000 rpm 离心 2 分钟。
5. 把吸附柱装在 2ml 收集管中，将第 4 步得到的上清溶液（一般可吸取 650-700  $\mu$ l）全部转入吸附柱中（小心别触及沉淀），12000 rpm 离心 2 min，倒弃流出液重新套上收集管。  
**注：吸附柱的最大体积为 850  $\mu$ l，如上清超过此体积，可分 2 次离心，保证所有上清都加到柱中。**
6. 加入 500  $\mu$ l 去蛋白液 GB（注意是否已经加入乙醇）至柱子中，12000 rpm 离心 1min，弃流出液。
7. 将吸附柱重新套回 2 ml 收集管中，加入 700 $\mu$ l 漂洗液 PW（注意是否已经加入乙醇）至柱子中，12000 rpm 离心 1min，倒弃流出液；
8. 再加入 500  $\mu$ l 漂洗液 PW（注意是否已经加入乙醇）至吸附柱中，12000 rpm 离心 1min，弃流出液。  
**注：吸附柱膜上如有血色素残余，这是正常现象，不会影响 DNA 的洗脱和纯度。**
9. 将吸附柱重新套回 2 ml 收集管中，12000 rpm 空用离心 2 min 以干燥柱子的基质；  
**注：这一步骤至关重要，不要省略，否则残余乙醇会影响后续酶切或 PCR 实验。**
10. 将柱子置于 1.5ml 灭菌离心管，向吸附柱 O 型垫圈中央悬空加入 50-100  $\mu$ l 65 $^{\circ}$ C 预热的洗脱缓冲液 EB 或灭菌去离子水，盖好吸附柱管盖，常温静置 2 min；  
注：① 洗脱缓冲液体积最好不少于 50  $\mu$ l，体积过小影响回收效率。  
② 洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。
11. 12000 rpm 离心 2 min 洗脱 DNA。保留含 DNA 的流出液。将 DNA 储于 -20 $^{\circ}$ C。

### ● DNA 浓度及纯度检测：

基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。提取的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。可配制 0.8-1.0% 琼脂糖凝胶，使用  $\lambda$ HindIII 判断基因组的大小，完整的基因组大小应在 23kb 以上。使用分光光度计检测时，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 比值应为 1.7-1.9 之间，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水洗脱，比值可能偏低，但并不表明 DNA 纯度不高。

### ● 实验示例：



400  $\mu$ l human blood gDNA 上样 5 $\mu$ l

1% agarose gel 1 $\times$ TAE 150V 30 min RealSafe Red Stain

● 常见问题分析:

常见问题	可能原因	建议
堵柱子	样本体积不对, 裂解不完全	未按照说明书使用指定体积操作, 请严格按照 <b>缓冲液 DL1: 全血: 缓冲液 DL2=3: 4: 3 体积比</b> 进行操作
回收不到 DNA 或得率低	堵柱子	见上
	化疗病人全血中提取 DNA	化疗病人血液中白细胞数量减少, 导致 DNA 数量降低
	全血样品保存不当, 导致全血溶血导致 DNA 降解	4℃冰箱中贮存 2 周的全血开始出现溶血现象, 此时 DNA 随贮存时间延长会程序分解, 最终导致分离不到电泳可见的 DNA; 全血应该-20℃或-80℃贮存。
	去蛋白液 GD 和漂洗液 PW 没有按说明书加入乙醇稀释	使用前按说明书加入适量的无水乙醇进行稀释
DNA 纯度差	高 A <sub>260</sub> /A <sub>280</sub> 比率大于 1.8	考虑全血样品的新鲜程度。陈旧全血中的 DNA 会降解成小片段 DNA 或核苷酸混合物, 导致 A260 读数变大
	DNA 中有 RNA 污染	使用非常新鲜的全血提取 DNA 时电泳结果会有 RNA 污染, RNA 不能作为扩增模板, 不会影响 PCR 扩增。如要去除 RNA, 可在步骤 1 加入缓冲液 DL1 时同步加入 5 μl RNaseA 溶液 (10mg/ml)
洗涤时柱中有带颜色的遗留物	未按照说明书使用指定体积操作	请严格按照 <b>缓冲液 DL1: 全血: 缓冲液 DL2=3: 4: 3 体积比</b> 进行操作
	去蛋白液 GB 和漂洗液 PW 没有按说明书加入乙醇稀释	使用前按标签加入标示体积的无水乙醇进行稀释