

血液 DNA 提取系列产品选择指南

血液 DNA 包括基因组 DNA、游离 DNA、病毒和寄生虫等病原体 DNA，能反映诸多遗传与疾病相关信息。

一、血液 DNA 分布

基因组 DNA (核染色质 DNA) 分布于有核细胞中。人类与哺乳动物血红细胞不含细胞核，血液基因组 DNA 指白细胞中的 DNA，通常使用至少 200 μ l 血液用作 DNA 提取。禽类、鸟类和两栖类等因其血红细胞为有核细胞，通常使用 2-10 μ l 血液用作 DNA 提取。

病毒 DNA 分布于细胞核与血浆/血清中，为减少基因组 DNA 对后续实验的干扰，通常分离血浆/血清用作病毒 DNA 提取。

寄生虫附着于细胞膜，为减少基因组 DNA 对后续实验的干扰，通常分离红细胞用作 DNA 提取。

游离 DNA 分布于血浆/血清中，为减少基因组 DNA 对后续实验的干扰，需及时分离血浆用作 DNA 提取。

二、常见采血管种类

EDTA·K ₂ 采血管	柠檬酸钠 (1:9)采血管	含分离胶的促凝管	肝素采血管
			
盖子颜色：紫色	盖子颜色：蓝色	盖子颜色：金色	盖子颜色：绿色
核酸提取兼容性最广	对部分核酸提取方法有影响	需去除分离胶，分散血凝块，建议使用血凝块液化柱 (NC401)	大多数核酸提取方法无法去除肝素，DK602、DK603和DK604能有效去除肝素

三、血液储存状态

新鲜血液：获得的 DNA 完整性、纯度与产量最佳；采用裂解后直接过柱的方法 (DK601) 可能会有 RNA 残留，建议在水浴步骤添加 RNase 或延长水浴时间以降解 RNA。

反复冻融：部分细胞破裂，加速了 DNA 降解，解冻后应及时进行 DNA 提取，剩余血液应及时冻存 (见 page6-3 实验示例 1)。

抗凝血长时间冻存或反复冻融后可能会产生血凝块，绝大部分 DNA 分布于血凝块中，应取血凝块用作 DNA 提取。

非冻存状态短时间放置：采血后可室温放置 1-2 天或 2-8°C 1 周，基因组 DNA 完整性和产量随放置时间延长而下降。

更长时间放置可能会滋生大量细菌。

干燥状态：血液在干燥状态下可长时间放置。直接干燥于滤纸、纱布等介质的血液受潮时会出现部分 DNA 降解，但通常能满足 PCR 的需求。

使用含保护成分的滤纸 (例如 FTA Indicating Card)，可实现样品的室温长时间储存。

四、后续实验对 DNA 完整性、浓度与纯度的要求

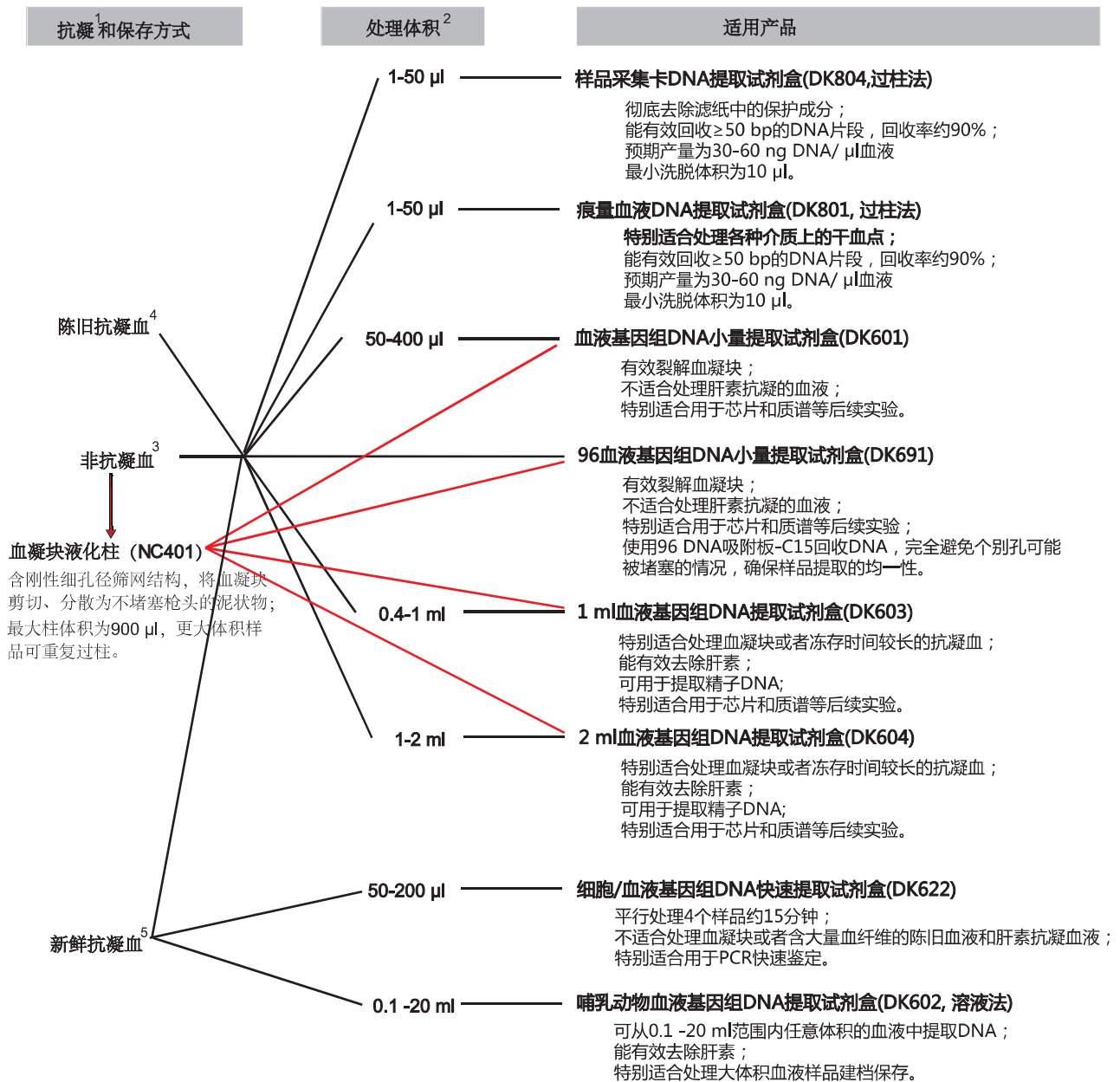
PCR：浓度与纯度要求较低，通常浓度 $\geq 10\text{ng}/\mu\text{l}$ ，260/230 ≥ 1 即可满足实验的需求，建议使用 DK622。

DNA 芯片：纯度要求高，260/230 ≥ 2.0 可获得较高的成功率，建议使用 DK601、DK603 或 DK604。

时间飞行质谱：完整性、浓度与纯度要求高，建议使用 DK602。

DNA 建档：建议使用 DK602、DK603 或 DK604。

五、从血液中提取基因组DNA



- 抗凝方式:** EDTA、枸橼酸抗凝的血液适用血液基因组DNA提取系列所有产品，肝素抗凝血液不适合使用DK601、DK691、DK602和DK622。
- 处理体积:** 上述所列体积为全血的体积，如果血液已经分离去除血清、血浆或者白膜层，应按照起始全血体积估算。
- 非抗凝血:** 未添加任何抗凝剂，通常采血管为金色盖子。使用血凝块液化柱可简化操作过程，并且明显提高DNA的产量和纯度。
- 陈旧抗凝血:** 室温或者4℃放置时间过长或者反复冻融多次，局部产生血凝块、部分DNA降解。需特别注意的是，绝大部分DNA存在于血凝块中，应吸取血凝块用作DNA提取。
- 新鲜抗凝血:** 4℃存放不超过10天，反复冻融不超过2次。长期冻存的血液，保存期间可能因为断电或者人为因素反复冻融，批量处理大体积冻存样品前，建议使用DK601处理小体积样品判断DNA的完整性。

从分离的红细胞中提取寄生虫DNA，建议使用DK603或DK604。

禽类、鸟类和两栖类全血:

1-10 μ l全血: 使用DK601，可用于芯片和质谱等后续实验。

1-50 μ l抗凝全血: 使用DK622快速提取，用于PCR鉴定。

其他体积血液: 折算为20倍体积，按照上述列表使用合适的产品。

六、从血浆/血清中提取 DNA

体液 DNA 微量提取试剂盒 (DK605, 过柱法)

适合处理≤400 μl 样品, 包括血浆、血清、腹水、组织间隙液、培养细胞上清等, 不适合处理肝素抗凝的血液中分离的血浆。

主要用于从各种体液中提取病毒 DNA, 从残留于血浆或血清的白细胞中提取基因组 DNA。

使用 DNA 吸附柱-C4 回收 DNA, 最大吸附量为 4 μg DNA, 最小洗脱体积为 10 μl。

游离 DNA 提取试剂盒 (DK607, 过柱法)

适合处理的样品为血清、EDTA-K₂、EDTA-K₃或ACD抗凝的血浆, 不适合处理肝素抗凝的血浆。

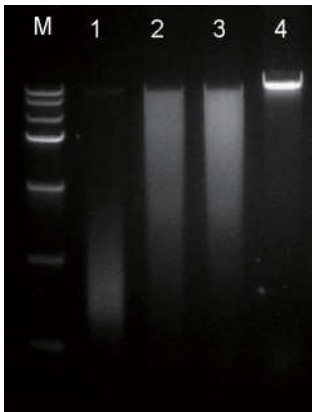
提供负压抽滤和离心过滤两种方式回收 DNA:

DK607-01 (50 次): 负压抽滤, 最大处理体积为 4 ml, 轻松获得≥30 ng cfDNA。

DK607-S-50 (50 次): 离心过滤, 每次处理 200 μl 样品, 以孕妇血浆为例, 可获得 0.8-3.2 ng cfDNA。

- ◆ Buffer CFD1可作为样品保存液, 方便分次采样和样品的异地运输;
- ◆ Buffer CFD1含DNA吸附基质, 能有效去除细胞DNA;
- ◆ 无需添加Carrier RNA, 有效吸回收≥50 bp的DNA, **回收率约70-80%** (见page6-5实验示例5);
- ◆ DNA吸附柱-L5, 可连接30 ml-扩容管, 负压抽滤快速完成DNA结合和洗涤步骤, 在台式离心机上完成洗脱步骤, 最小洗脱体积为25 μl。
- ◆ DNA吸附柱-CS, 最小洗脱体积为10 μl。

七、实验示例



实验示例 1: 使用 DK601 从不同保存条件的血液中提取 DNA

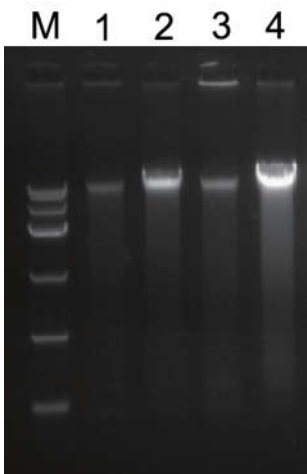
样品: 200 μl 猪血 洗脱体积 100 μl, 电泳体积 2μl;

0.8% agarose, 4V/cm, 30 min; M: DL15,000

1. 猪血-20°C冻存约 8 个月后解冻, 4°C放置 4 周; 大部分 DNA 已降解为 250bp-2,500bp 片段;
2. 猪血-20°C冻存约 8 个月后解冻, 4°C放置 2 周; 大部分 DNA 已降解为 500bp-10,000bp 片段;
3. 猪血-20°C冻存约 9 个月后解冻, 4°C放置 1 周; 大部分 DNA 已降解为 1,000bp-10,000bp 片段;
4. 猪血-20°C冻存约 9 个月后解冻, 4°C放置 1 天; 大部分 DNA≥15,000bp。

实验讨论 1: 可从血液中提取 > 250 bp DNA, DNA 产量和完整性与血液储存条件和时间有关。

实验讨论 2: 冻存血在解冻后, 由于细胞损伤或者破裂加速了 DNA 降解; 建议在短时间内进行 DNA 提取。



实验示例 2: 使用血凝块液化柱处理非抗凝血

M: DL15,000 0.8% agarose

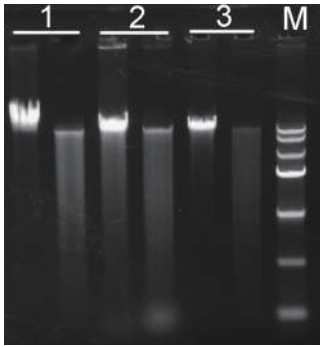
1 和 2 为同一份样品;

3 和 4 为同一份样品;

1 和 3 未使用血凝块液化柱

2 和 4 使用血凝块液化柱

样品	浓度(ng/μl)	260/280	260/230
1	33.5	1.74	1.92
2	66.9	1.82	2.16
3	66.3	1.77	2.1
4	184.7	1.85	2.29



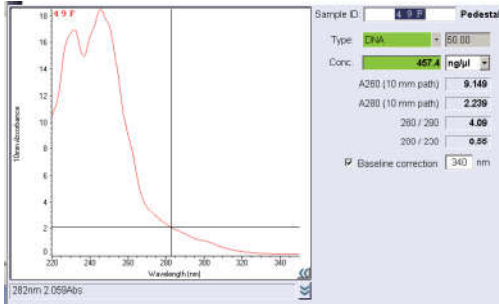
实验示例 3: 使用 DK602 和 DK603 从抗凝和非抗凝血中提取 DNA, *EcoR I* 酶切

样品: 1 ml 正常人血液; 溶解或者洗脱体积 500 μ l, 取 2 μ l 电泳; 0.8%琼脂糖凝胶, 电压 4 V/cm, 电泳 30 min; M: DL15,000。电泳图中每组左侧为提取的 DNA, 右侧为 *EcoR I* 酶切产物。

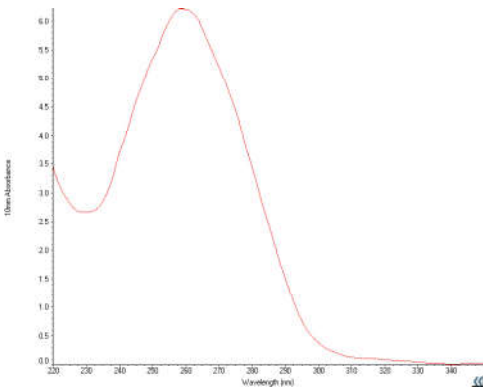
1. 抗凝血(4°C放置 1 周), 使用 DK602;
2. 非抗凝血(4°C放置 1 天), 使用 DK602;
3. 非抗凝血(4°C放置 1 天), 使用 DK603。

实验讨论: DK602 适合从抗凝血中提取 DNA; 从非抗凝血或含大量血凝块的血液中提取 DNA 会有蛋白残留(电泳加样孔有明显残留物, *EcoR I* 酶切后出现 250 bp 左右降解的片段, 建议使用 DK603 或 DK604)。

实验示例 4: 从肝素抗凝血中提取 DNA



← 使用 DK601 处理肝素抗凝血获得的 DNA, Nanodrop 检测
肝素残留, 吸收峰不在 260nm, 浓度高, A260/230 比值小于 1
其他同类公司产品获得的 DNA 与此相似。



← 使用 DK603 处理肝素抗凝血液, 获得纯净的 DNA
230nm 为吸收低谷, 260nm 为吸收峰
DK603 包含的试剂 Buffer MG-A 凝集沉淀 DNA 步骤即可去除肝素。

以下数据为客户提供, 使用 DK603 从 1ml 肝素抗凝血中提取 DNA, 洗脱体积 100 μ l, A260/230 比值普遍大于 2.0。

Sample ID	Conc.	Unit	260/280	260/230	Sample ID	Conc.	Unit	260/280	260/230
1	216.6	ng/ μ l	1.85	2.16	17	321.9	ng/ μ l	1.84	1.98
2	170.9	ng/ μ l	1.83	2.04	18	109.1	ng/ μ l	1.78	2.01
3	103.7	ng/ μ l	1.86	2.1	19	128.3	ng/ μ l	1.84	2.09
4	200.5	ng/ μ l	1.85	2.2	20	120.8	ng/ μ l	1.84	1.99
5	122.7	ng/ μ l	1.82	2.11	21	206.3	ng/ μ l	1.84	2.05
6	187.3	ng/ μ l	1.84	1.95	22	133	ng/ μ l	1.84	2.23
7	100.7	ng/ μ l	1.84	2.15	23	198.4	ng/ μ l	1.84	2.07
8	150.2	ng/ μ l	1.81	1.97	24	179.5	ng/ μ l	1.84	2.02
9	143.4	ng/ μ l	1.85	2.04	25	475.9	ng/ μ l	1.85	2.07
10	195	ng/ μ l	1.84	2.15	26	198.6	ng/ μ l	1.84	1.96
11	268.1	ng/ μ l	1.85	2.06	27	286.7	ng/ μ l	1.85	2.05
12	165.4	ng/ μ l	1.83	2.15	28	105.3	ng/ μ l	1.81	2.09
13	150.1	ng/ μ l	1.84	1.89	29	144.4	ng/ μ l	1.83	2.01
14	211.8	ng/ μ l	1.86	2	30	127.5	ng/ μ l	1.75	2.16
15	146.9	ng/ μ l	1.84	1.85	31	168.2	ng/ μ l	1.86	2.19
16	113.2	ng/ μ l	1.83	2.03	32	252.9	ng/ μ l	1.85	2.12

实验示例 5: 使用 DK607 从 1-5 ml 血浆中提取 DNA 与估算回收率

样品准备:

血浆: 使用 EDTA-K₂ 采血管收集 50 ml 正常人血液, 两次离心的方式获得约 20 ml 血浆。

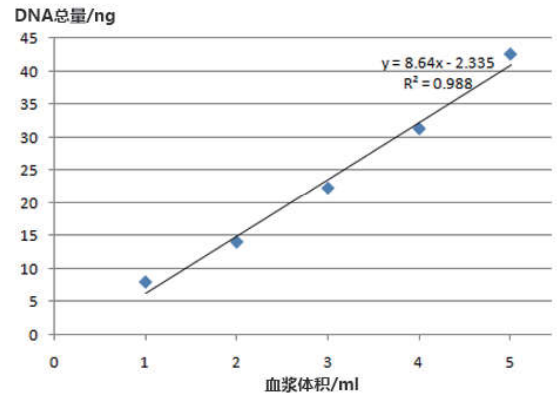
245 bp DNA: 根据 Nanodrop 定量稀释至 0.5 ng/μl, 25 μl 245 bp DNA 加入 975 μl 血浆中, 总量约 13 ng;

其浓度与和长度与正常人血浆中游离 DNA 相似, 考察其回收率可间接估算游离 DNA 的提取效率。

实验参数:

样品	负压抽滤时间 (步骤六.6)	Qubit 定量 (ng/μl)	DNA 总量 (ng)
245 bp DNA		0.491	12.28
975 μl 血浆 加 25 μl 245 bp DNA	2' 12"	0.695	17.38
1 ml 血浆	2' 10"	0.317	7.93
2 ml 血浆	4' 52"	0.56	14
3 ml 血浆	8' 30"	0.89	22.25
4 ml 血浆	12' 12"	1.25	31.25
5 ml 血浆	35' 55"	1.7	42.5

洗脱体积: 25 μl

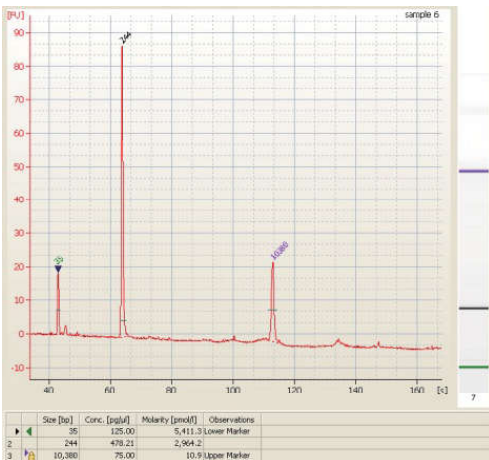


实验讨论 1: 起始血浆体积与 DNA 产量可呈线性关系;

实验讨论 2: 处理 5 ml 血浆负压抽滤时间较长, DNA 吸附柱已出现堵塞的情况, 因此限定本方法处理血浆体积的上限为 4 ml;

实验讨论 3: 回收率 = (额外加入 DNA 的血浆提取量 - 未加入 DNA 的血浆提取量) / 加入 DNA 的总量 = (17.38 - 7.93) / 12.28 = 77%

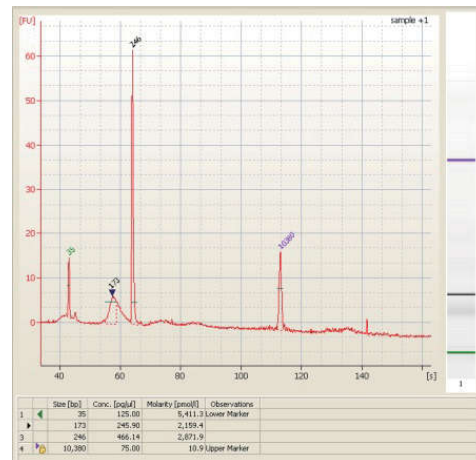
Agilent Bioanalyzer 2100 电泳鉴定回收率



↑ 245 bp DNA (Qubit 定量 0.491 ng/μl)

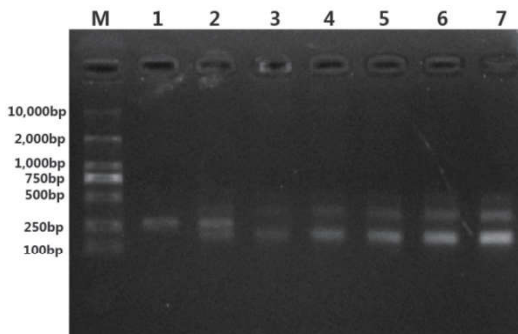
245 bp 区域浓度为 0.478 ng/μl, 与 Qubit 定量接近
荧光值(FU): 85

根据荧光值(FU)估算回收率 = 61 / 85 = 71.8%



↑ 起始样品为 975 μl 血浆加 25 μl 245 bp DNA

245 bp 区域浓度为 0.466 ng/μl, 可能是相邻峰干扰导致数值偏高
荧光值(FU): 61



← 琼脂糖凝胶电泳

1.5% agarose, EB 用电泳缓冲液稀释至 1 mg/ml, 在 50 ml 凝胶中加入 1 μl 6.7V/cm 15 min;

M: DL2000+10kb, 稀释 10 倍, 电泳 1 μl, 750 bp 约 2 ng, 其余条带约 1 ng;

1-7 电泳体积 3 μl;

1: 245 bp DNA 片段;

2: 起始样品为 975 μl 血浆加 25 μl 245 bp DNA

3-7: 起始血浆体积分别为 1ml、2ml、3ml、4ml 和 5ml

琼脂糖凝胶电泳未观察到明显的细胞 DNA 残留, 说明 Qubit 定量数据能相对准确反应游离 DNA 的量。

八、血液 DNA 提取产品价格

产品名	目录号	规格	价格
游离 DNA 提取试剂盒	DK607-01	50次	6400
	DK607-S-50	50次	800
体液 DNA 微量提取试剂盒	DK605-01	50次	520
血液基因组 DNA 小量提取试剂盒	DK601-01	50次	400
	DK601-02	200次	1400
96 血液基因组 DNA 小量提取试剂盒	DK691-2	2×96	1800
细胞/血液基因组 DNA 快速提取试剂盒	DK622-01	50次	300
	DK622-02	200次	1000
哺乳动物血液基因组 DNA 提取试剂盒(溶液法)	DK602-01	处理50ml血液	350
	DK602-02	处理200ml血液	1250
1 ml 血液基因组 DNA 提取试剂盒	DK603-01	50次	640
	DK603-02	200次	2400
2 ml 血液基因组 DNA 提取试剂盒	DK604-01	50次	950
	DK604-02	200次	3450
痕量血液 DNA 提取试剂盒	DK801-01	50次	400
	DK801-02	200次	1400
样品采集卡 DNA 提取试剂盒	DK804-01	50次	500
	DK804-02	200次	1800
血凝块液化柱	NC401-01	50个	250
	NC401-02	200个	1000



上海莱枫生物科技有限公司

地址：上海市中山南二路 777 弄 1 号楼 1903 室

电话：021-64810180

传真：021-54252754

技术邮箱：shanghai@lifefeng.com

技术支持：13817902990(上海)