# 血液红细胞DNA提取法

### 1 实验目的

提取样品DNA

### 2 适用范围

该方法适用于禽类等血液红细胞中有细胞核的动物的血液DNA提取

### 3 实验原理

直接提取血液红细胞中的核酸

### 4 实验仪器

高速离心机、水浴锅、振荡器

### 5 试剂耗材

|  |  |
| --- | --- |
| TE | 300μl |
| SDS | 1ml |
| EDTA | 240μl |
| 饱和酚/氯仿/异戊醇（25：24:1） | 1.2ml |
| Proteinase K | 8μl |
| RNase A | 10μl |
| Tris饱和酚 | 600μl |
| 氯仿/异戊醇 | 600μl |
| 无水乙醇 | 约600μl |
| 70%乙醇 | 2ml |
| 枪头 | 25个 |
| EP | 6个 |

### 6 操作步骤

（1） 取抗凝血30μL，放入1.5 mL离心管中，加入0.3 mL TE，10μL RnaseA酶（2.5 mg/mL），8μL蛋白酶K（20 mg/mL），颠倒混匀，55℃消化2h。

（2） 加入0.6 mL Tris饱和酚颠倒混匀成悬浮液（20min），放置后分层，如上层有块状物则需继续颠倒混匀，直到上层无块状物。12000 rpm离心10 min。

（3） 吸取上层透明的DNA液至另一干净的1.5ml的离心管中，注意不要搅拌下层的酚-蛋白层。加入0.6 mL 酚/氯仿/异戊醇（25：24：1），颠倒混匀成悬浮液，12000 rpm离心10 min。

（4） 重复步骤（3）的内容。

（5） 吸取上清液放入另一干净的1.5ml的离心管中。加入0.6 ml氯仿/异戊醇（24：1）溶液，颠倒混匀，12000 rpm离心10 min。

（6） 吸取上清液放入另一干净的1.5ml的离心管中，加入2倍体积的冰无水乙醇，颠倒混合，可见絮状漂浮物。12000 rpm离心10min，倒掉乙醇。

（7） 加入0.5 mL75％冰乙醇洗涤2次。加100 μL 超纯水或TE溶解。4℃或-20℃（长期）保存。