



**北京博凌科为生物科技有限公司**

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: [blkwbio@blkwbio.com](mailto:blkwbio@blkwbio.com)

- ◆ 凝固血基因组DNA提取试剂盒
  - ◆ 目录号 1431
  - ◆ 使用手册
  - ◆ 实验室使用，仅用于体外
-

---

## 凝固血基因组 DNA 提取试剂盒

目录号: 1431

### ❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	160 次×50 $\mu$ l (143101)	320 次×50 $\mu$ l (143102)
细胞核裂解液	室温	90 ml	180 ml
蛋白沉淀液	室温	35 ml	70 ml
Glycogen	-20 $^{\circ}$ C	0.35 ml	0.7 ml
蛋白酶 K 粉 (可选) 20mg/ml	-20 $^{\circ}$ C	10mg	20mg

本试剂盒在室温储存 18 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 环境温度低时细胞核裂解液中某些去污剂成份会析出出现浑浊或者沉淀, 可在 37 $^{\circ}$ C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清, **不要剧烈摇晃**, 以免形成过量的泡沫。
2. 为避免降低活性、方便运输, 提供**蛋白酶 K 为冻干粉状**, 收到后, 可短暂离心后, 加入 **0.5 或 1ml 灭菌水溶解**, 因为反复冻融可能会降低酶活性, 因此溶解后立即按照每次适合使用量分装冻存, -20 $^{\circ}$ C 保存。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

### ❖ 产品介绍:

本试剂盒根据凝固全血特点独家研制的细胞核裂解液配合蛋白酶 K 裂解凝固血块释放出基因组 DNA, 然后蛋白沉淀液选择性沉淀去除蛋白, 最后纯净的基因组 DNA 在 Sigma 的分子生物学级 Glycogen 的助沉下通过异丙醇沉淀并重溶解于 DNA 溶解液。

### ❖ 产品特点:

1. 不需要使用有毒的苯酚等试剂。

- 
2. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
3. 结果稳定，配合|Sigma 的分子生物学级 Glycogen 帮助沉淀微量 DNA，产量高，OD260/OD280 典型的比值达 1.7~1.9，长度可达 50Kb-150kb，可直接用于构建文库、PCR、Southern-blot 和各种酶切反应。

❖ **注意事项：**

1. **所有的离心步骤均在室温完成**，使用转速可以达到2,500 x g，并配备容纳50ml离心管转头的传统台式离心机（小量提取，用小离心机即可）。
2. 用户需自备异丙醇和70%乙醇和TE缓冲液。
3. 典型的凝固血产量1ml全血可提取出10-30 $\mu$ g基因组DNA（不同凝固程度的样品产量的个体差异可能非常大）。
4. 本试剂盒为溶液型，可以很容易的按照比例扩大或者缩小每次处理的全血量（20 $\mu$ l-10ml）。对于每个样品提取血量大或者用量大的客户，可以和我们联系，我们另有专门准备有优惠的大包装试剂。

❖ **操作步骤：**（以处理■50 $\mu$ l 和◆1ml 凝固全血举例）

1. 加入■50 $\mu$ l 凝固血液至一个 1.5ml 离心管或◆1ml 凝固血液至一个 50ml 离心管，剧烈涡旋或者用手剧烈拍打离心管帮助打散凝血块。
2. 加入■550 $\mu$ l 或◆11ml 细胞核裂解液，吹打混匀，再加入■3 $\mu$ l 或◆60 $\mu$ l 蛋白酶 K(20mg/ml)，颠倒混匀 25 次。
3. 55 $^{\circ}$ C 放置 3 小时至过夜，直到所有的凝块完全融解。
4. **可选步骤（一般不需要做）：**加入■3 $\mu$ l 或◆60 $\mu$ l RNase A（4mg/ml），在裂解物中加入 RNase A（10mg/ml）至终浓度 30 $\mu$ g/ml，颠倒 25 次混匀，37 $^{\circ}$ C 温育 15 分钟去除残留 RNA。
5. 将裂解物迅速冷却到室温（可置冰上一分钟）。
6. 加入■200 $\mu$ l 或◆4ml 蛋白沉淀液，在**涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 25 秒**，混匀后可能见到一些小的蛋白团块。

---

注意液体确实要旋转着振荡起来，而不仅仅是上下振动，这样混匀效果和沉淀蛋白效果最佳。

7. 置冰上■5分钟 或◆10分钟。
8. ■13,000-16,000 x g 离心5分钟或◆2,500 x g(可根据需要调整加大离心力)离心10分钟。这时候应该可以见到管底暗褐色的蛋白沉淀，也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。
9. 小心吸取上清到一个新的■1.5ml 离心管 或◆50ml 离心管中。

吸取上清时，注意不要吸到管底的和漂浮在液体表面的蛋白沉淀。如果不小心将蛋白沉淀转入新的离心管中，可再次离心2分钟后取上清。

10. 加入■600 $\mu$ l 的室温异丙醇和 1 $\mu$ l Glycogen 溶液或◆12ml 室温异丙醇和 20 $\mu$ l Glycogen 溶液，轻柔颠倒50次混匀或者直到出现棉絮状(丝状)白色DNA沉淀。处理样品量大的时候才可能看见丝状沉淀，处理样品量少或者保存质量不好的时候往往看不见。

11. ■13,000-16,000 x g 离心1分钟或◆2,500 x g 离心3分钟，这时候应该看到管底白色的DNA沉淀。

12. 小心弃上清，倒置后在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇(注意不要丢失沉淀)。

13. 加入■600 $\mu$ l 或◆12ml 70%乙醇，颠倒几次漂洗DNA沉淀。

14. ■13,000-16,000 x g 离心1分钟或◆2,500 x g 离心1分钟，倒去上清(沉淀很松，注意不要把DNA沉淀倒掉了)，倒置后在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇，还可以用枪头小心吸掉管底沉淀周围和管壁的残留乙醇，空气晾干沉淀几分钟。

注意不要干燥过头，否则DNA极其难溶；也不能残留太多乙醇，否则乙醇可能抑制下游如酶切反应。

15. 加入■20 $\mu$ l 或◆250-400 $\mu$ l TE 缓冲液(或者客户根据需要选择的缓冲液)重新水化溶解DNA沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在65 $^{\circ}$ C温育30-60分钟(不要超过一小时)，也可以在室温或者4 $^{\circ}$ C放置过夜来重新水化DNA，中间不时的轻弹管壁帮助重新水化DNA。

16. DNA 可以存放在2-8 $^{\circ}$ C,如果要长时间存放，可以放置在一20 $^{\circ}$ C。