



# 0.1-1ml 凝固血基因组 DNA 提取试剂盒

Blood Clot DNA Kit

## 产品信息:

试剂盒组成	保存	DL106-01
		50 次
红细胞裂解液	室温	100ml
细胞核裂解液	室温	30ml
蛋白沉淀液	室温	10ml
DNA 溶解液	室温	10ml
过滤柱	室温	50 个
收集管	室温	50 个

**保存条件:** 本试剂盒在室温储存 18 个月不影响使用效果。

## 产品介绍:

本试剂盒根据全血特点采用几个快速步骤提取基因组 DNA，特别适合有血块的全血提取。首先凝固血块通过特殊过滤柱充分分散，红细胞裂解液 II 裂解去除不含 DNA 的红细胞，细胞核裂解液裂解白细胞释放出基因组 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 通过异丙醇沉淀并重溶于 DNA 溶解液。

## 产品特点:

1. 优选的红细胞裂解液，针对有血块的样品，裂解快速完全。
2. 质量稳定，产量高，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 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。
3. 本试剂盒可以很容易的按照比例扩大或者缩小每次处理的全血量。

## 注意事项:

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℃ 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. 蛋白沉淀液可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，如果不能完全溶解，也不影响使用效果，直接取用上层溶液即可。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。
4. 本试剂盒可运用于多种抗凝剂的全血，如 EDTA、柠檬酸、肝素抗凝血。其中由于肝素抗凝血的白细胞沉淀团很难打散重悬，影响裂解效果，**建议选用非肝素的抗凝剂收集血液标本。**
5. 为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者 4℃ 存放小于 3 天的标本，不要使用反复冻融超过 3 次的标本，否则会严重降低产量。

**自备试剂：** 异丙醇和 70% 乙醇

#### 操作步骤：

1. 取含血凝块的全血 500 $\mu$ l (或 0.5g) 至过滤柱中，8,000-12,000rpm 离心 1 min，收集下液。
2. 将上述液体转入到一个新的 2ml 离心管中，加入 1.5ml 红细胞裂解液 II，颠倒 6-8 次，并倒置轻弹管壁，确保充分混匀。
3. 室温放置 10 min (期间应该颠倒轻弹混匀数次帮助裂解红细胞)。
4. 12,000rpm 离心 20 sec，倒弃红色上清，并小心的尽可能多的吸弃上清 (注意不要吸到管底的细胞团)，留下完整的管底白细胞团和大约 10 $\mu$ l 的残留上清。  
**离心后如果仍看到大量红色细胞团，应该再加入红细胞裂解液重悬细胞团后重复步骤 3，4。**

5. 涡旋振荡 15 sec，重悬、充分分散白细胞团。
6. 加入 500 $\mu$ l 细胞核裂解液到重悬的白细胞，迅速有力吹打混匀，以裂解白细胞。由于基因组 DNA 立刻释放出来，混合物会马上变得十分粘稠，立刻停止吹打 (以免剪切断基因组 DNA)，颠倒旋转离心管 10 次保证裂解液和所有的白细胞接触并裂解。

**如果还有肉眼可见团块，可 65℃ 温育 30-60 min (不要超过一小时) 至裂解完全。**

7. **可选步骤：** 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℃ 温育 15 min 去除残留 RNA，**然后冷却回室温。**
8. 加入 170 $\mu$ l 蛋白沉淀液后，在**涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 25 sec**。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。
9. 12,000rpm 离心 5 min。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。

10. 小心吸取上清（大约 600 $\mu$ l）到一个新的 1.5ml 离心管中。
11. 加入等体积的室温异丙醇，轻柔颠倒混匀或者直到出现棉絮状（丝状）白色 DNA 沉淀。
12. 12000rpm 离心 1 min，弃上清。
13. 加入 1ml 的 70%乙醇后，颠倒混匀，12,000rpm 离心 1 min，在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块，倒弃上清。
14. 加入 0.5ml 的 70%乙醇，颠倒几次漂洗 DNA 沉淀，12,000rpm 离心 1 min，弃上清（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。
15. 加入 50-100 $\mu$ l DNA 溶解液重新溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65 $^{\circ}$ C 温育 30-60 min（不要超过一小时），也可以在室温或者 4 $^{\circ}$ C 放置过夜来重新溶解 DNA，中间可以轻弹管壁帮助溶解 DNA。（**注意：DNA 产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解**）