



血凝块基因组 DNA 小量提取试剂盒 (Blood Clot Genomic DNA Kit)

目录号: ZP314

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP314-01 (20次)	ZP314-02 (50次)	ZP314-03 (100次)
红细胞裂解液(10×)	10 ml	20 ml	40 ml
缓冲液 A	10 ml	15 ml	30 ml
缓冲液 B	10 ml	15 ml	30 ml
缓冲液 C	15 ml	30 ml	60ml
漂洗液 W2	15 ml	15 ml	2×15 ml
洗脱缓冲液 TE	15 ml	15 ml	15 ml
蛋白酶 K	0.2ml	0.5ml	1 ml
研磨杵	20 个	50 个	100 个
吸附柱	20 个	50 个	100 个
收集管 (2 ml)	20 个	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份	1 份

选配试剂: RNaseA (100mg/ml) (目录号: ZS103)

储存条件:

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下可保存 12 个月;更长时间的保存可置于 2-8°C。

产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,提取多种细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

提取得率:

材料	提取量	DNA 得量
哺乳动物血凝块	100-400 µl	1-5 µg
禽类、两栖类全血	5-20 µl	5-40 µg

产品特点:

简单快速: 一小时内即可获得超纯的基因组 DNA。

超 纯: 获得的 DNA 纯度高,可直接用于 PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

注意事项: 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若缓冲液 A 或缓冲液 B 中有沉淀,可在 65°C 水浴中重新溶解,摇匀后使用。
3. 所有离心步骤均为使用台式离心机,室温下离心。
4. 红细胞裂解液为 10×母液,实验时请用蒸馏水稀释至 1×使用。
5. 漂洗液 W2 在使用前请按瓶上标签提示,加入适当的无水乙醇。

操作步骤：

1. 处理材料：本试剂盒每次可以处理哺乳动物 100 μ l-0.5mL 的血凝块。推荐处理血量 100 μ l-300 μ l。确定血凝块的体积（将 1ml 的枪头剪成适当的口径吸取并测量血凝块的体积，打出血凝块的同时可用剪刀将血凝块剪成 20-50 μ l 体积得小块）
2. 在样品中加入 2-3 倍体积 **1 \times 红细胞裂解液**（**10 \times 红细胞裂解液需要稀释为 1 \times 使用**），用研磨杵研磨混匀至无大的团块，后振荡混匀 5-10 秒。12000rpm (~11,500 \times g)离心 1 分钟，小心地从沉淀的另一侧吸去上清。再次加入 2-3 倍体积 **1 \times 红细胞裂解液**裂解一次，重复研磨振荡，离心去上清。

注意：吸附血红素的白细胞沉淀于管；少量的血红素不影响提取。

3. 加入 200 μ l **缓冲液 A**，涡旋振荡重悬细胞团块。（振荡 10 秒-15 秒）。
注意：如果需要去除 RNA，可加入 4 μ l **RNaseA (100 mg/ml) 溶液（客户自备，目录号：ZS103），振荡 15 秒，室温放置 5 分钟。**
4. 加入 10 μ l **蛋白酶 K** 溶液，上下颠倒混匀。
5. 加入 200 μ l **缓冲液 B**，颠倒混匀（如果仍有大的团块，可用研磨杵研磨至无大的团块，小的碎片无需处理，水浴后会消失），56 $^{\circ}$ C 放置 10-30 分钟至无细胞碎片，其间颠倒混匀 4-5 次。
注意：加入缓冲液 B 时可能会产生白色沉淀，但不会影响后续实验。
本步骤颠倒混匀即可，不可振荡。下一步骤亦如此。
6. 加入 200 μ l **无水乙醇**，颠倒混匀，此时溶液变得**透明粘稠**，瞬时离心使管盖内壁的水珠回到管底部。

7. 将上一步所得溶液全部加入**吸附柱**中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。
8. 向吸附柱中加入 500 μ l **缓冲液 C**，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。
9. 向**吸附柱**中加入 700 μ l **漂洗液 W2**（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。
10. 向**吸附柱**中加入 500 μ l **漂洗液 W2**，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。然后 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 2 分钟。将吸附柱置于一个新的 1.5ml 离心管中，室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。

11. 向吸附膜的中间部位悬空滴加 80-200 μ l **洗脱缓冲液 TE**，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。
注意：建议洗脱缓冲液体积为 100 μ l，体积过小影响回收效率。为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 2 分钟。

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(可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C，以防 DNA 降解。