

快速血凝块 DNA 纯化试剂盒说明书

产品组成

快速血凝块 DNA 纯化试剂盒	5 次样品	50 次制备	250 次制备
Cat. No.	4211005	4211050	4211250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 离心管	5 个	50 个	250 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml	1.2 ml $\times$ 5
Buffer SP	100 μ l	1 ml	1 ml $\times$ 5
Buffer PL	1.5 ml	15 ml	75 ml
Buffer L7	3 ml	30 ml	150 ml
Buffer WB（浓缩液）	3 ml	19 ml	50 ml $\times$ 2
Buffer TE	1.2 ml	12 ml	60 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存与有效期

1. 蛋白酶 K 贮存液和 Buffer SP 请于 -20°C 储存。
2. Buffer L7 可常温运输，收到产品后请置于 2~8°C 储存。
3. 其他试剂与物品如果储存于常温（0~30°C），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上（2~8°C 储存的产品使用前应先使产品恢复到室温后再使用）。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 300~400 mg 血凝块中分离纯化总 DNA。血凝块无需研磨，直接加裂解液消化。溶解后的血凝块经 Buffer L7 沉淀血红蛋白，上清液中的 DNA 结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，纯化柱上的 DNA 经 Buffer WB 洗涤，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管、移液器及吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
5. 水浴锅和旋涡振荡器

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
2. 将水浴锅温度设置到 56°C，并将 Buffer PL 和 Buffer TE 温育至 56°C。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1. 用 1.5 ml 离心管称取 300~400 mg 血凝块，根据血凝块的体积（按 1 mg = 1 μ l 换算），补加 Buffer PL 至终体积为 500 μ l。

- * 请选用不含任何促凝剂的红色盖采血管采血。橙色盖采血管（容易与红色采血管混淆）中的促凝剂含有硅石粉，会影响DNA的提取。如果要从橙色盖采血管的血凝块中提取DNA，参考步骤2的蓝色小字内容。
- * 对于冷冻保存的血凝块样本，融化后可能会渗出大量血水（血水中的DNA含量较少，大部分DNA仍集中在血凝块中），可高速离心后去掉上层液体部分，保留下层血凝块进行DNA提取。
- * 比如重量为360 mg的血凝块中，应加入140 μ l Buffer PL。
- * 如果使用手术刀切取血凝块，可用刀尖将血凝块切碎后再转移到1.5 ml离心管中，以加快血凝块溶解速度。
- * 勿使用超过400 mg血凝块，否则将超出蛋白酶K的消化能力。

2. 加入 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液，再加入 15 μ l Buffer SP，旋涡振荡约 15 秒混匀。56°C水浴 10 分钟。

- * 水浴期间每隔3分钟旋涡振荡数秒以帮助血凝块溶解。
- * 血凝块溶解后呈粘稠状，10分钟后如果还有少量未溶解的血凝块颗粒不影响后续的操作。
- * 若要从促凝采血管的血凝块中提取DNA，则需在水浴结束后最高速（ ≥ 13000 rpm）离心5分钟，取上清进入步骤3的操作。

3. 加入 500 μ l Buffer L7，盖上管盖，剧烈摇晃离心管 3~5 次，再旋涡振荡混合 30 秒。最高速（ ≥ 13000 rpm）离心 1 分钟。

4. 吸取上清液（约 700 μ l）加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中），盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 宁可少吸取部分上清液也不要吸取管底沉淀物，沉淀物会严重影响最终DNA的纯度。
- * 如果上清液颜色较深，可对着光源观察沉淀情况。

5. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 800 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2 ml离心管在纸巾上倒扣拍击一次。
- * 确认在Buffer WB中已经加入无水乙醇。

6. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 300 μ l Buffer WB，盖上管盖，最高速（ ≥ 13000 rpm）离心 1 分钟。

7. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱的膜中央加入 100~200 μ l 56°C温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 注意取出核酸纯化柱时不要让滤液触及核酸纯化柱底部，如果核酸纯化柱沾染有滤液，请弃尽滤液重新将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中最高速空离1分钟，再取出核酸纯化柱进行此操作步骤。
- * 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

8. 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。