

版本号: DP171212

TIANamp Blood Clot DNA Kit

血凝块基因组DNA提取试剂盒

(100 μ l-1 ml)

(离心柱型)

目录号: DP335

产品内容

| 产品组成 | DP335-02 (50 preps) |
|-------------------------------------|------------------------|
| 细胞裂解液CL (Buffer CL) | 60 ml |
| 缓冲液GS (Buffer GS) | 15 ml |
| 缓冲液GB (Buffer GB) | 15 ml |
| 缓冲液GD (Buffer GD) | 13 ml |
| 漂洗液PW (Buffer PW) | 15 ml |
| 洗脱缓冲液TB (Buffer TB) | 15 ml |
| Proteinase K | 1 ml |
| 吸附柱CB3 (Spin Columns CB3) | 50个 |
| 液化柱CX1 (Liquefaction Columns CX1) | 50个 |
| 收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2ml) | 100个 |
| 1.5 ml离心管 (Centrifuge Tubes 1.5 ml) | 50个 |

选配试剂

RNase A (100 mg/ml) (目录号: RT405-12)

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8 $^{\circ}$ C。2-8 $^{\circ}$ C保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37 $^{\circ}$ C水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

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，提取血液凝块中的基因组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。

产品特点

简单快速：1 h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

1. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇。
 2. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小、提取量下降。
 3. 若缓冲液GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，摇匀后使用。
 4. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
 5. 1ml以上血凝块基因组DNA提取，请选购TIANGEN 中/大量血液基因组DNA提取试剂盒（DP332/DP333）和液化柱CX2/CX3进行提取。
-

操作步骤

1. 处理血凝块（本产品适用于100 μ l-1 ml血凝块样品）：
 - a. 取血凝块至液化柱CX1中，12,000 rpm(\sim 11,500 \times g)离心1 min，收集滤液进行下一步实验（若血凝块量大可分次离心收集滤液）。
 - b. 取滤液加入1-2.5倍体积的细胞裂解液CL，颠倒混匀，10,000 rpm(\sim 11,500 \times g)离心1 min，吸去上清，留下细胞核沉淀（如果裂解不彻底，可重复b步骤一次），向收集到的细胞核沉淀中加200 μ l缓冲液GS，振荡至彻底混匀。

注意：如果需要去除RNA，可加入4 μ l RNase A（100 mg/ml）溶液（客户自备，目录号：RT405-12），振荡15 sec，室温放置5 min。
 2. 加入20 μ l Proteinase K溶液，混匀。
 3. 加300 μ l缓冲液GB，充分颠倒混匀，56 $^{\circ}$ C放置10 min，其间颠倒混匀数次，溶液应变澄清（如溶液未彻底变澄清，请延长裂解时间至溶液澄清为止）。
 4. 加300 μ l无水乙醇，充分颠倒混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
 5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CB3中（吸附柱CB3放入收集管中），12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
 6. 向吸附柱CB3中加入500 μ l缓冲液GD（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
 7. 向吸附柱CB3中加入600 μ l漂洗液PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
-

-
- 重复操作步骤7。
 - 将吸附柱CB3放回收集管中，12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CB3置于室温放置数分钟，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。

- 将吸附柱CB3转入1.5 ml离心管中，向吸附膜中间位置悬空滴加50-200 μl 洗脱缓冲液TB，室温放置2-5 min，12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于50 μl ，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CB3中，室温放置2 min，12,000 rpm($\sim 13,400 \times g$)离心2 min。洗脱液的pH对于洗脱效率有很大影响。若用ddH₂O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。