

Imagene®

Cogulate Blood DNA System 凝固全血基因组 DNA 提取系统



CODONX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

凝固全血基因组 DNA 提取系统

目录号 DE101

使用说明书

网站: www.codonx.com
咨询电话: 010-56315162
技术支持 QQ: 3090544158

- 1/适用范围
- 2/试剂盒组成、储存、稳定性
- 3/储存事项
- 4/产品介绍
- 5/产品特点
- 6/注意事项
- 7/操作步骤

1/适用范围:

适用于琼脂糖凝胶 DNA 回收。

2/试剂盒组成、储存、稳定性:

| 试剂盒组成 | 保存 | 160 次×50μl | 320 次×50μl |
|--------------------|------|------------|------------|
| | | (DE101-01) | (DE101-02) |
| 细胞核裂解液 NLS | 室温 | 90 ml | 180 ml |
| 蛋白沉淀液 PPS | 室温 | 35 ml | 70 ml |
| Glycogen | -20℃ | 0.35 ml | 0.7 ml |
| 蛋白酶 K 粉 20mg/ml | -20℃ | 10mg | 20mg |

本试剂盒在室温储存 18 个月不影响使用效果。

3/储存事项:

1. 环境温度低时细胞核裂解液 NLS 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. 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℃ 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。

4/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 NLS 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 PPS 选择性沉淀去除蛋白,最后纯净的基因组 DNA 在 Glycogen 的助沉下通过异丙醇沉淀并重溶于 DNA 溶解液。

5/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 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。

6/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 μ 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 μ l-10ml）。

7/操作步骤：（以处理■50 μ l 和◆1ml凝固全血举例）

1. 加入■50 μ 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 μ l 或◆11ml细胞核裂解液 NLS，吹打混匀，再加入■3 μ l 或◆60 μ 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 μ l 或◆60 μ l RNase A（4mg/ml），在裂解物中加入 RNase A（10mg/ml）至终浓度 30 μ 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 μ l 或◆4ml 蛋白沉淀液 PPS，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。

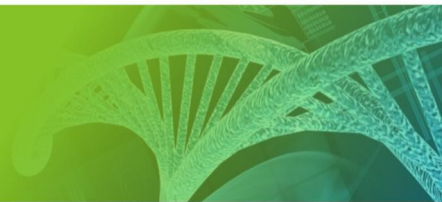
8. ■13,000-16,000 x g 离心 5 分钟或◆2,500 x g(可根据需要调整加大离心力)离心 10 分钟。这时候应该可以见到管底暗褐色的蛋白沉淀，也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。

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 μ l 的室温异丙醇和 1 μ l Glycogen 溶液或 ◆ 12ml 室温异丙醇和 20 μ 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 μ 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 μ l 或 ◆ 250-400 μ 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。



CodonX(China) Biotechnology Co., Ltd

Yizhuang Biomedical Park
Building 6, No.88 6th Kechuang St. Economic-Technological Development Area, Beijing, China
Tel: 010-56315162 www.codonx.com