

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

SPARKclassic Blood DNA Kit

中量全血基因组DNA提取试剂盒

(溶液型)

目录号: AA1103

01/产品组分

序号	组分	20 次×3mL AA1103-A	50 次×3mL AA1103-B
1	10×红细胞裂解液	20 mL	45 mL
2	细胞核裂解液	60 mL	150 mL
3	蛋白沉淀液	20 mL	50 mL
4	DNA 溶解液	10 mL	20 mL

02/保存条件

所有组分均室温（15-25℃）保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取各种动物全血基因组 DNA，可在 1 h 内完成单个或多个样本的提取工作。本试剂盒根据全血特点采用几个快速步骤提取基因组 DNA。首先红细胞裂解液裂解去除不含 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解于 DNA 溶解液。不同样品尤其疾病样品中中白细胞数量差异可能非常大，因此产量的个体差异也可能非常大。

不同样本量的全血提取 DNA 的大致产量与纯度如下：

样本类型	样本量	DNA 平均产量	纯度 (OD260/OD280)
人类全血 (4℃可保存一周)	300 µL	3-10 µg	1.7-1.9
	1 mL	4-30 µg	1.7-1.9
	3 mL	75-150 µg	1.7-1.9
	5 mL	100-200 µg	1.7-1.9
	10 mL	200-400 µg	1.7-1.9

注：根据血液样品中白细胞数量和保存条件的差异，DNA 产量也会有所差异。

04/自备材料

抗凝剂、异丙醇、70%乙醇、去离子水、RNase A

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- ◇ 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。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。
- ◇ 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。
- ◇ 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瓶盖。
- ◇ 为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者 4℃ 存放少于 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。

06/使用方案

1. 吸取 9 mL 1×红细胞裂解液到一个 15 mL 离心管。

▲ 使用前应该用去离子水将 10×红细胞裂解液稀释到 1×。

2. 将抗凝全血（使用前恢复到室温）颠倒混匀后，吸取 3 mL 加到装有红细胞裂解液离心管中，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. 2,500×g离心2 min, 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), 将完整的管底白细胞团和大约50 μL的残留上清留下。

▲离心后在管底应该见到白色的白细胞团, 也可能有一些红细胞残片和白细胞团在一起, 但是如果看到的是大部分的红色细胞团, 说明红细胞裂解很不充分, 应该再加入适量红细胞裂解液重悬细胞团后重复步骤3, 4。
5. 涡旋振荡直到白细胞团充分重悬、分散。

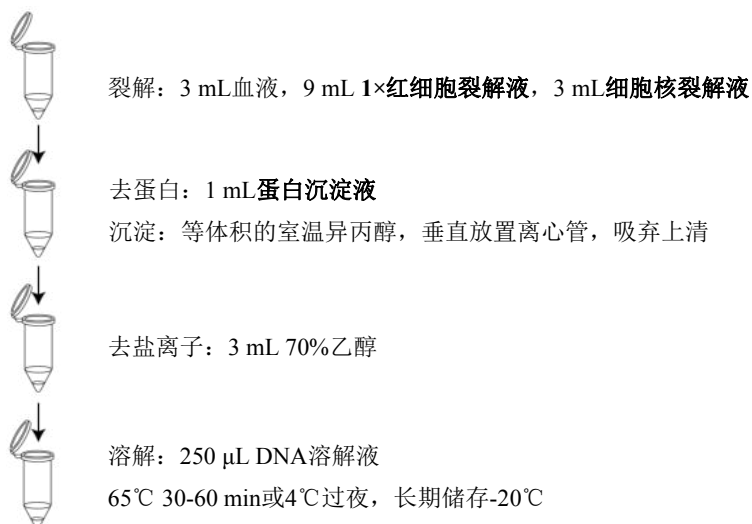
▲白细胞的重悬分散对下一步裂解非常重要, 白细胞未打散就加入细胞核裂解液, 会导致白细胞不能充分裂解, 形成肉眼可见团块。
6. 加入3 mL细胞核裂解液到重悬的白细胞, 上下吹打裂解白细胞, 或者剧烈涡旋10 s帮助裂解白细胞。

▲可选步骤: 在裂解物中加入RNase A (10 mg/mL) 至终浓度30 μg/mL, 颠倒25次混匀, 37℃温育15 min去除残留RNA, 然后冷却回室温。
7. 加入1 mL蛋白沉淀液后, 在涡旋振荡器上高速连续振荡混匀25 s。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。
8. 2,500×g(可根据需要调整加大离心力)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。
9. 小心吸取上清(约3 mL)到一个新的15 mL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 min后取上清。
10. 加入等体积的室温异丙醇(约3 mL), 轻柔颠倒30次混匀或者直到出现棉絮状(丝状)白色DNA沉淀。
11. 2,000×g离心3 min, 在管底可以见到白色的DNA沉淀块, 倒弃上清。
12. 加入3 mL 70%乙醇, 颠倒几次漂洗DNA沉淀, 2,000×g离心1 min, 倒去上清(注意不要倒掉DNA沉淀), 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。
13. 加入250 μL DNA溶解液(如果需要浓度高, 可根据需要减少DNA溶解液用量)重新水化溶解DNA沉淀, 轻弹管壁混匀, 可以放置在65℃温育30-60 min(不要超过1 h), 也可以在室温或者4℃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。
14. DNA可以存放在2-8℃, 如果要长时间存放, 可以放置在-20℃。

07/流程简图



08/相关产品

- AA1906 蛋白酶K (10 mg/mL)
- EA0001 红细胞裂解液 (即用型)
- AA0901 SPARKeasy 全血/组织/细胞基因组DNA快速提取试剂盒
- AA1102 SPARKeasy 全血基因组DNA快速提取试剂盒 (小量、含蛋白酶K)
- AC0901 SPARKeasy 全血总RNA快速提取试剂盒

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

