

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

# SPARKclassic Blood DNA Kit

## 凝固全血基因组DNA提取试剂盒

(溶液型)

目录号: AA1201

### 01/产品组分

序号	组分	320 次×50 μL AA1201-A	320 次×50 μL AA1201-B
1	细胞核裂解液	180 mL	180 mL
2	蛋白沉淀液	70 mL	70 mL
3	Glycogen	0.7 mL	0.7 mL
4	蛋白酶 K 溶液 20 mg/mL	-	1 mL

### 02/保存条件

Glycogen、蛋白酶K溶液于-20℃保存，其它组分室温（15-25℃）保存。

### 03/产品概述

本试剂盒根据凝固全血特点研制的细胞核裂解液配合蛋白酶 K 裂解凝固血块释放出基因组 DNA，然后蛋白沉淀液选择性沉淀去除蛋白，最后纯净的基因组 DNA 在分子生物学级 Glycogen 的助沉下通过异丙醇沉淀并重新溶解于 DNA 溶解液，整个过程可在 4 h 内完成。

不同样本量的血凝块提取 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)
血凝块	200-500 μL	1-8 μg	1.7-1.9
	500-1000 μL	8-15 μg	1.7-1.9

## 04/自备材料

异丙醇、70%乙醇、TE 缓冲液、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

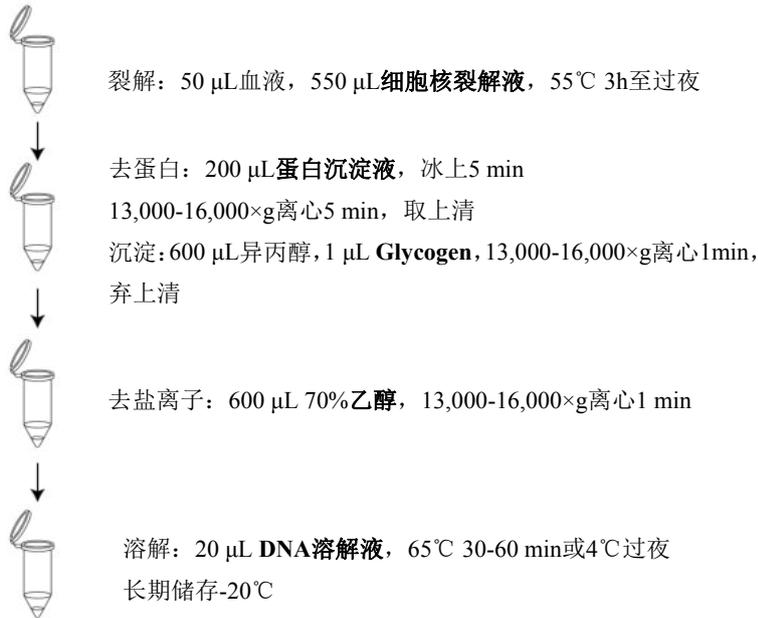
- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- ◇ 环境温度低时细胞核裂解液中某些去污剂成份会析出出现浑浊或者沉淀，可在 37℃ 水浴加热几分钟，即可恢复澄清，不要剧烈摇晃，以免形成过量的泡沫。
- ◇ 典型的凝固血产量 1 mL 全血可提取出 10-30 μg 基因组 DNA（不同凝固程度的样品产量的个体差异可能非常大）。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。

## 06/使用方案（以处理■50 μL和◆1 mL凝固全血举例）

1. 加入■50 μL凝固血液至一个1.5 mL离心管或◆1 mL凝固血液至一个50 mL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 μL或◆11 mL细胞核裂解液，吹打混匀，再加入■3 μL或◆60 μL蛋白酶K（20 mg/mL），颠倒混匀25次。
3. 55℃放置3 h至过夜，直到所有的凝块完全融解。
  - ▲可选步骤（一般不需要做）：加入■3 μL或◆60 μL RNase A（10 mg/mL），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。
4. 将裂解物迅速冷却到室温（可置冰上1 min）。
5. 加入■200 μL或◆4 mL蛋白沉淀液，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。
  - ▲注意液体确实要旋转着振荡起来，而不仅仅是上下振动，这样混匀效果和沉淀蛋白效果最佳。
6. 置冰上■5 min或◆10 min。
7. ■13,000-16,000×g离心5 min或◆2,500×g（可根据需要调整加大离心力）离心10 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。
8. 小心吸取上清到一个新的■1.5 mL离心管或◆50 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。
9. 加入■600 μL的室温异丙醇和1 μL Glycogen溶液或◆12 mL室温异丙醇和20 μL 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。

10. ■13,000-16,000×g离心1 min或◆2,500×g离心3 min，这时候应该看到管底白色的DNA沉淀。
11. 小心弃上清，倒置在吸水纸上轻敲几下以控干残留异丙醇（注意不要丢失沉淀）。
12. 加入■600 μL或◆12 mL 70%乙醇，颠倒几次漂洗DNA沉淀。
13. ■13,000-16,000×g离心1 min或◆2,500×g离心1 min，倒去上清（注意不要把DNA沉淀倒掉），倒置在吸水纸上控干或用枪头吸掉管底残留乙醇，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反应（如酶切）。
14. 加入■20 μL或◆250-400 μL TE缓冲液重新水化溶解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。
15. 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

- AA1904-A RNase A (10 mg/mL)
- AA1906 蛋白酶K (10 mg/mL)
- AA1102 SPARKeasy 全血基因组DNA快速提取试剂盒 (小量、含蛋白酶K)
- AA1103 SPARKclassic 全血基因组DNA提取试剂盒 (中量)
- 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](mailto:support@sparkjade.com)

