



ELK Biotechnology
For research use only.

Amp Blood Clot DNA Extraction Kit

血凝块基因组 DNA 提取试剂盒使用说明书

货号	规格	储藏/有效期
EP009-50T	50T	室温/一年
EP009-200T	200T	室温/一年

产品介绍

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。

试剂盒组成

成分	EP009-50T	EP009-200T	Storage
Proteinase K	1 ml	4 ml	-20°C
Solution GAS1	25 ml	100 ml	RT
Solution GA2	25 ml	100 ml	RT
Wash Buffer	60 ml	240 ml	RT
Solution RP	30 ml	120 ml	RT
Solution RCL	15 ml	60 ml	RT
Solution GE	10 ml	40 ml	RT
吸附柱 G 柱	50 套	200 套	RT
说明书	1 份	1 份	RT



ELK Biotechnology

For research use only.

一、选配试剂

RNase A (10 mg/ml)

二、重要注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
2. 如果提取次生代谢产物大量积累或细胞壁厚的细菌培养物的基因组，建议在对数生长期早期收集样品。
3. 第一次使用前应按试剂瓶标签的说明在 Wash Buffer 和 Solution RP 中加入无水乙醇。
4. 若 Solution GAS1 和 Solution GA2 有结晶或沉淀，可将其于 56 °C 水浴重新溶解，摇匀后使用。
5. 如果下游实验对 RNA 污染比较敏感，可以在加入 Solution GA2 前加入 4 μ l DNase-Free 的 RNase A (100 mg/ml)，RNase A 本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购。
6. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。

三、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EP管中，加入1-2.5倍体积的细胞裂解液RCL，颠倒混匀，12,000 rpm(\approx 11,500 \times g)离心1 min，弃上清，留下细胞核沉淀（如果裂解不彻底，可重复b步骤一次）；

b. 向收集到的细胞核沉淀中加200 μ l GAS1，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），振荡15 sec，室温放置5 min。

2. 加入20 μ l Proteinase K溶液，混匀。

3. 加入300 μ l 缓冲液GA2，充分颠倒混匀，56 °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. 加入300 μ l 无水乙醇（客户自备），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G中（吸附柱G放入收集管中），12,000 rpm(\approx 11,500 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱G放入收集管中。

6. 向吸附柱G中加入500 μ l Solution RP（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm(\approx 11,500 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱G放入收集管中。

7. 向吸附柱G中加入600 μ l Wash Buffer（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm(\approx 11,500 \times g)离心30 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱G放入收集管中。

8. 重复操作步骤7。

9. 将吸附柱G放回收集管中，12,000 rpm(\approx 11,500 \times g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱G室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的无水乙醇。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的无水乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。



ELK Biotechnology

For research use only.

10. 将吸附柱G转入1.5 ml离心管中,向吸附膜中间位置悬空滴加50-200 μ l (推荐50 μ l) Solution GE, 室温放置2-5 min, 12,000 rpm(\approx 11,500 \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 μ l, 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G柱中, 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 $^{\circ}$ C, 以防DNA降解。

四、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 μ g/ml 双链 DNA、40 μ 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, 而使用去离子水, 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。

五、常见问题及解答

A、堵柱子:

建议: 请将样本裂解充分,无明显絮状物后,进行下一步操作;用 Solution RP 多次清洗(注意,多次清洗会造成基因组回收率低);一次性针头滤器或 200 孔筛网过滤。

B、基因组提取得率低:

建议: 延长消化时间,增加样本用量等。

C、Solution 中有沉淀未溶解

建议: Solution 在温度较低时会出现沉淀, 使用前请检查是否有沉淀生成, 如有沉淀生成, 请置于 37 $^{\circ}$ C 温育片刻, 待溶液澄清后使用。

D、Wash Buffer 中未按要求加入乙醇

建议: 按照说明书要求加入要求量的无水乙醇, 使用后旋紧瓶盖, 防止乙醇挥发。

E、溶解体积及时间的选择

建议: 溶解体积将会影响最终的收获量, 溶解体积越大, 收获量越高, 但是浓度将会降低。请使用试剂盒推荐的溶解体积进行溶解, 以保证最好的收获量和浓度。建议: 加入 Solution GE 后, 室温放置 2~5 min, 更有利于溶解。