**凝固血基因组DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2618**

**■ 产品简介：**

本试剂盒适用于从凝固血中提取基因组DNA。结合先进的硅基质膜技术，能够专一的结合DNA，并最大限度去除血液中杂蛋白及其他有机物。本产品无需乙醇沉淀，1 h内即可完成总DNA的提取，具有高效、快速、方便之特点。

**■主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2618（50次）** |
| 平衡液LB | 30 ml |
| 红细胞裂解液 | 30 ml |
| 裂解液LA | 30 ml |
| 结合液LN | 60 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 1 ml |
| 吸附柱C1（含2ml收集管） | 50个 |
| 液化柱（含2ml收集管） | 50个 |

**■保存条件**：

室温（15-25℃）

**■自备试剂**：

无水乙醇。

**■ 注意事项：**

1. 应尽量选用新鲜样本材料，保证DNA的完整性。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在漂洗液PW中加入相应的无水乙醇。
3. 若下游实验对RNA污染较敏感，可在70℃水浴孵育后加入10 µl浓度为10 mg/ml的RNase A溶液，RNase A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购。

**■ 操作步骤：**

1. 处理凝血块：
2. 取血凝块至液化柱中，12,000 rpm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）。
3. 取100-200µl滤液加入3倍体积的红细胞裂解液，颠倒混匀5min，12,000 rpm离心1 min，吸去上清，留下细胞核沉淀。
4. 向收集到的细胞核沉淀中加入480 µl裂解液LA和20µl蛋白酶K，迅速颠倒混匀后，将离心管置于70℃水浴10 min，其间颠倒离心管混匀样品数次。

**注：如需去除RNA，可在上述步骤完成后，加入10 µl浓度为10 mg/ml的 RNase A 溶液。**

（3）加入2倍体积的结合液LN，充分混匀。

（4）柱平衡：向吸附柱C1中加入500 µl平衡液LB，12,000rpm离心1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱放入收集管中。

（5）将混匀的液体转入吸附柱C1中，12,000 rpm离心30 sec，弃掉废液。（吸附柱容积约为800 µl左右，可分次加入离心。）

（6）向吸附柱C1中加入600 µl漂洗液PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱C1放入收集管中。

（7）重复操作步骤6。

（8）空柱12,000 rpm离心2 min。室温放置5-10 min，除去残留乙醇。

**注：漂洗液中的乙醇会影响后续酶促反映，此处应尽量晾干残留的漂洗液。**

（9）将吸附柱放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位滴加50-100µl洗脱缓EB，室温放置1 min，12,000 rpm离心2 min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20℃保存。

**注：将洗脱得到的溶液重新加入吸附柱中，重复步骤9可增加DNA得率。若后续实验对pH、EDTA敏感，需使用ddH2O做洗脱液。**