

# 全血/组织/细胞基因组DNA快速提取试剂盒（含蛋白酶K）

产品货号：26782

产品规格：50次/200次

## 产品简介：

本试剂盒适用于快速提取全血、各种动植物组织细胞基因组DNA，可在1h内完成单个或多个样本的提取工作。基于独特的结合液/蛋白酶K迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，然后基因组DNA在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速漂洗、离心步骤，进一步将蛋白、多糖、多酚以及细胞代谢物等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组DNA从硅基质膜上洗脱。不同样品尤其疾病样品中白细胞数量差异非常大，因此产量的个体差异也可能非常大。

不同样本提取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)
哺乳动物全血	100-400 $\mu$ L	3-10 $\mu$ g	1.7-1.9
禽类、两栖类全血	5-20 $\mu$ L	5-40 $\mu$ g	1.7-1.9
培养细胞	10 <sup>6</sup> -10 <sup>7</sup> cells	5-30 $\mu$ g	1.7-1.9
动物组织	30mg	10-30 $\mu$ g	1.7-1.9
小鼠尾	1.2cm尖部	10-25 $\mu$ g	1.7-1.9
大鼠尾	0.6cm尖部	20-40 $\mu$ g	1.7-1.9

## 产品内容：

产品名称	50次	200次	保存条件
平衡液	5ml	20ml	室温
裂解液TL	11ml	40ml	室温
缓冲液BB	10ml	40ml	室温
结合液CB	15ml	60ml	室温
抑制物去除液IR	25ml	100ml	
漂洗液WB	15ml (第一次使用前加无水乙醇60ml)	25ml $\times$ 2 (第一次使用前每瓶加无水乙醇100ml)	室温
洗脱缓冲液EB	15ml	15ml $\times$ 2	室温
蛋白酶K溶液 (20mg/mL)	1ml	1ml $\times$ 4	-20 $^{\circ}$ C
吸附柱AC	50个	200个	室温
收集管(2mL)	50个	200个	室温

## 自备材料：

异丙醇、无水乙醇、抗凝剂（用于全血）、PBS（用于细胞）、胰蛋白酶（用于细胞）、RNase A。

## 注意事项：

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 所有离心操作步骤，均在室温（15-25 $^{\circ}$ C）下进行。
2. 裂解液 TL、结合液 CB、或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37 $^{\circ}$ C 水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。



扫一扫 加微信

**郑州乐业生物科技有限公司**

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

3. 结合液 CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
5. 首次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
6. 为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者 4°C 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。
7. 关于平衡液的使用：取一个新的硅胶膜吸附柱装在收集管中，吸取 100 $\mu$ L 的平衡液至柱中。12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 1min，弃废液，将吸附柱重新放回收集管。平衡液在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37°C 使沉淀完全消失。

#### 使用方案：

##### 1. 样本处理：

###### ◆ 全血

- a. 取 200 $\mu$ L 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液，放入 1.5mL 离心管。
  - ▲如果全血起始量小于 200 $\mu$ L，则用缓冲液 BB 补足到 200 $\mu$ L。如果起始量介于 200 $\mu$ L-300 $\mu$ L 之间，则后续操作需要按照比例增加试剂用量。如果起始量介于 300 $\mu$ L-1mL 之间，则需要先进行红细胞裂解操作。
  - ▲如果处理血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量 5-20 $\mu$ L，可加缓冲液 BB 补足到 200 $\mu$ L 后进行后续步骤。
- b. 加入 20 $\mu$ L 蛋白酶 K (20mg/mL) 溶液，充分混匀，再加入 200 $\mu$ L 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在 70°C 放置 10min。溶液应变清亮（但颜色偏黑色）。
  - ▲可选步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可以在加入 200 $\mu$ L 结合液 CB 前加 20 $\mu$ L RNase A (25mg/mL) 溶液，振荡混匀，室温放置 5-10min。
- c. 冷却后加入 100 $\mu$ L 异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
  - ▲上述步骤中立刻涡旋或者吹打充分混匀非常重要，混匀不充分严重降低产量，必要时如样品粘稠不易混匀时可以涡旋振荡 15s 混匀。
- d. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入用平衡液预处理过的吸附柱 AC 中，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 60s，弃废液。
- e. 接操作步骤项下 2。

###### ◆ 组织培养细胞

- a. 收集约 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> 悬浮细胞到一个 1.5mL 离心管；对于贴壁细胞，应该先用胰蛋白酶消化后吹打下来收集。
- b. 12,000 rpm (13,400 $\times$ g) 离心 10s，使细胞沉淀下来。弃上清，留下细胞团和大约 10-20 $\mu$ L 残留的液体。
- c. 加 200 $\mu$ L 1 $\times$ PBS 重悬洗涤细胞，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 10s，使细胞沉淀下来。完全吸弃上清，将细胞沉淀重悬于 180 $\mu$ L 1 $\times$ PBS 中。
- d. 加入 20 $\mu$ L 蛋白酶 K (20mg/mL) 溶液，充分混匀，再加入 200 $\mu$ L 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在 70°C 放置 10min。
  - ▲可选步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可以在加入 200 $\mu$ L 结合液 CB 前加 20 $\mu$ L RNase A (25mg/mL) 溶液，振荡混匀，室温放置 5-10min。
- e. 冷却后加 100 $\mu$ L 异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
- f. 将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入用平衡液预处理过的吸附柱 AC 中，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 60s，弃废液。
- g. 接操作步骤项下 2。

###### ◆ 动植物组织（例如鼠肝脑或者植物叶片）

- a. 将 20-50mg 新鲜或者解冻的组织用解剖刀切成小碎块（切成小块可以提高产量）或者在液氮中研磨组



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司  
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

织成细粉后，转入装有 180 $\mu$ L 组织裂解液 TL 的 1.5mL 离心管中，用大口径枪头吹打混匀。

- b. 加入 20 $\mu$ L 的蛋白酶 K 溶液 (20mg/mL)，立刻涡旋振荡充分混匀。
- c. 将裂解物放置在 55 $^{\circ}$ C 水浴 1-3h 或者直到组织消化完全，期间轻柔的振荡几次帮助裂解。  
▲可选步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可在完成步骤 c 后加 20 $\mu$ L RNase A (25mg/mL) 溶液，振荡混匀，室温放置 5-10min。
- d. 加入 200 $\mu$ L 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，70 $^{\circ}$ C 放置 10min。
- e. 冷却后加 100 $\mu$ L 异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
- f. 用 1mL 的枪头吸取混合物，将混合物加入用平衡液预处理过的吸附柱 AC 中，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 60s，弃废液。  
▲如果有不溶组织物可能堵住枪头，可将枪头在吸水纸上轻蹭去除不溶物；如果吸上来的混合物少则可以将枪头和不溶物一起弃去，该做法是为了去除不溶物，以免堵塞离心柱。
- g. 接操作步骤项下 2。
- ◆ 动物组织 (鼠尾)
  - a. 将 0.2-0.5cm 的鼠尾巴尖 (即 20-50mg) 剪碎 (一定要剪 0-2cm 范围内的尾巴尖，否则裂解效果不好)，或者在液氮中研磨组织成细粉后，转入装有 180 $\mu$ L 组织裂解液 TL 的 1.5mL 离心管中，用大口径枪头吹打混匀。
  - b. 加入 20 $\mu$ L 的蛋白酶 K (20mg/mL)，立刻涡旋振荡充分混匀。
  - c. 将裂解物放置在 55 $^{\circ}$ C 水浴 3h 或者直到组织消化完全，期间轻柔的振荡几次帮助裂解。  
▲可选做步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可在完成步骤 c 后加 20 $\mu$ L RNase A (25mg/mL) 溶液，振荡混匀，室温放置 5-10min。
  - d. 用一个 1mL 不带针头的输液器 (或 1mL 剪去枪尖的枪头) 抽打裂解物 2-3 次。
  - e. 加入 200 $\mu$ L 结合液 CB 和 100 $\mu$ L 异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀。
  - f. 12,000 rpm (13,400 $\times$ g) 离心 5min，将上清加入用平衡液预处理过的吸附柱 AC 中，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 30-60s，弃废液。
  - g. 接操作步骤项下 2。  
◇ 上述步骤中立刻涡旋或者吹打充分混匀非常重要，混匀不充分严重降低产量，必要时如样品粘稠不易混匀时可以涡旋振荡 15 s 混匀。
2. 加入 500 $\mu$ L 抑制物去除液 IR，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 30 s，弃废液。
3. 加入 600 $\mu$ L 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!)，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 30s，弃废液，重复该步骤一遍。
4. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 2min，尽量除去漂洗液。
5. 取出吸附柱 AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加 50-100 $\mu$ L 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热)，室温放置 3-5min，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 1min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置 2min，12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 1 min。  
▲洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 50 $\mu$ L，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少 DNA 产量。
6. DNA 可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在 -20 $^{\circ}$ C。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

流程简图:



样本处理:

全血: 200  $\mu\text{L}$  血液, 不足200  $\mu\text{L}$ , 缓冲液BB补足至200  $\mu\text{L}$

细胞: 离心收集 $10^5$ - $10^6$ 悬浮细胞, 200  $\mu\text{L}$  PBS洗涤细胞, 重悬于180  $\mu\text{L}$  PBS中

组织: 20-50 mg剪碎或研磨的组织, 180  $\mu\text{L}$ 裂解液TL

鼠尾组织: 20-50 mg的鼠尾尖剪碎或液氮研磨, 180  $\mu\text{L}$ 裂解液TL



裂解: 组织: 20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K, 55 $^{\circ}\text{C}$  1-3 h

200  $\mu\text{L}$ 结合液CB, 100  $\mu\text{L}$ 异丙醇, 混匀(鼠尾需13,400 $\times$ g离心 5min取上清)

全血、细胞: 20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K; 200  $\mu\text{L}$ 结合液CB, 70 $^{\circ}\text{C}$  10 min, 100  $\mu\text{L}$ 异丙醇, 混匀

结合: 将混合物加入到平衡好的吸附柱AC中, 13,400 $\times$ g离心30-60 s



去抑制物: 500  $\mu\text{L}$ 抑制物去除液IR, 13,400 $\times$ g离心30 s

去盐离子: 600  $\mu\text{L}$ 漂洗液WB (请先检查是否已加入无水乙醇!)

13,400 $\times$ g离心30 s, 两次

去残留乙醇: 13,400 $\times$ g空甩2 min



洗脱: 50-100  $\mu\text{L}$ 洗脱缓冲液EB (65-70 $^{\circ}\text{C}$ 预热)

室温静置3-5 min, 13,400 $\times$ g离心1 min, 可重复洗脱一次

长期储存-20 $^{\circ}\text{C}$



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com