

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	100-400μL	3-10μg	1.7-1.9
禽类、两栖类全血	5-20μL	5-40μg	1.7-1.9
培养细胞	10 ⁶ -10 ⁷ cells	5-30μg	1.7-1.9
动物组织	30mg	10-30μg	1.7-1.9
小鼠尾	1.2cm尖部	10-25μg	1.7-1.9
大鼠尾	0.6cm尖部	20-40μg	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×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×2	室温
蛋白酶K溶液 (20mg/mL)	1ml	1ml×4	-20℃
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℃）下进行。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

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°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。
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100μL的平衡液至柱中。12,000rpm (13,400×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200μL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200μL，则用缓冲液BB补足到200μL。如果起始量介于200μL-300μL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300μL-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5-20μL，可加缓冲液BB补足到200μL后进行后续步骤。
- b. 加入20μL蛋白酶K (20mg/mL) 溶液，充分混匀，再加入200μL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200μL结合液CB前加20μL RNase A (25mg/mL) 溶液，振荡混匀，室温放置5-10min。
- c. 冷却后加入100μL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×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10⁵-10⁶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×g) 离心10s，使细胞沉淀下来。弃上清，留下细胞团和大约10-20μL残留的液体。
 - c. 加200μL 1×PBS重悬洗涤细胞，12,000rpm (13,400×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180μL 1×PBS中。
 - d. 加入20μL蛋白酶K (20mg/mL) 溶液，充分混匀，再加入200μL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200μL 结合液CB前加20μL RNase A (25mg/mL) 溶液，振荡混匀，室温放置5-10min。
 - e. 冷却后加100μL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（包括可能的沉淀）加入用平衡液预处理过的吸附柱AC中，12,000rpm (13,400×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）



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

- 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织成细粉后，转入装有180 μ 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 μ 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 μ L RNase A（25mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10min。
 - d. 加入200 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ L结合液CB和100 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

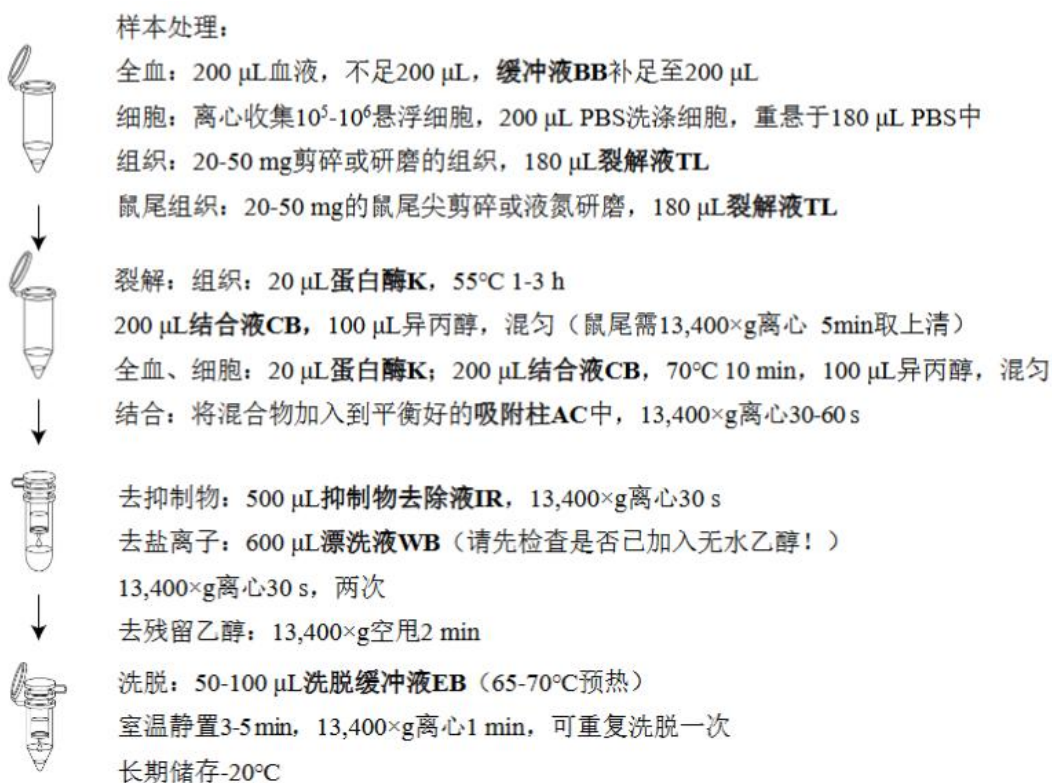
电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>

流程简图：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>