

## 产品组分

组分名称	组分编号	规格	保存条件
		50 RXN	
Proteinase K (20 mg/mL)	RM30130	1.2 mL	RT
Buffer DA	RM30131	15 mL	RT
Buffer DLB	RM30132	15 mL	RT
Buffer DW1 *	RM30133	13 mL	RT
Buffer DW2 Plus **	RM30134	12 mL	RT
Buffer EB2	RM30153	15 mL	RT
Spin Column 4	RM30187	50 pk	RT
2 mL Collection Tubes	RM30188	50 pk	RT

\*注: 50 RXN Buffer DW1使用前加入17 mL无水乙醇。

\*\*注: 50 RXN Buffer DW2 Plus使用前加入48 mL无水乙醇。

## 产品说明

本试剂盒适合从各种血液/细胞/组织样品中快速简单地提取基因组 DNA, 提取的基因组 DNA 片段大, 纯度高, 稳定性好, 可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。提取过程无需酚氯仿抽提, 血液、细胞或组织经裂解液裂解和 Proteinase K 消化, 然后在无水乙醇的调节下可与 Spin Column 4 结合, 经过快速充分的洗涤去除残留的蛋白质和盐分等杂质, 最后 DNA 溶解于 Buffer EB2 中。

## 产品特点

1. 通用提取动物组织、血液和细胞样本基因组 DNA。
2. 操作简单方便, 单管提取时间不超过 20 min。
3. 提取的核酸质量高, 纯度好, 可适用于下游各种 PCR, 酶切, 芯片检测等实验。

## 保存条件

1. 本试剂盒所有组分可置于室温 (15-25) °C 干燥条件下保存 12 个月。
2. 使用前请检查 Buffer DA 和 Buffer DLB 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀, 请将 Buffer DA 和 Buffer DLB 置于 37°C 水浴重新溶解。

## 注意事项

1. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 如需要去除 RNA, 需自备试剂 RNase A (100 mg/mL)。

## 操作说明

### 自备材料

无水乙醇, 1.5 mL 灭菌离心管

### 操作步骤

#### 1. 样本处理

**注: 本试剂盒除了较好提取血液、细胞和组织 DNA 外, 还能从细菌中提取高质量的 DNA。**

a. **哺乳动物血液:** 取 200  $\mu\text{L}$  新鲜或抗凝血放入 1.5 mL 离心管中, 直接按照步骤 2-10 进行操作, 当血液不足 200  $\mu\text{L}$  时需用 Buffer DA 补足。

b. **禽类、鸟类、两栖类血液:** 取 5-20  $\mu\text{L}$  新鲜或抗凝血放入 1.5 mL 离心管中, 用 Buffer DA 补足至 200  $\mu\text{L}$ 。

c. **组织培养细胞:** 收集约  $10^5$ - $10^6$  个悬浮细胞 (细胞总量不可超过  $5 \times 10^6$  个) 到一个 1.5 mL 离心管; 对于贴壁细胞, 应先用胰蛋白酶消化吹打下来。然后 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心 1 min, 弃上清, 向细胞沉淀中加入 200  $\mu\text{L}$  Buffer DA, 振荡至彻底悬浮。

d. **动物组织:** 称取 < 25 mg 动物组织 (脾脏用量应少于 10 mg) 经液氮研磨成细粉或用解剖刀切成小碎块, 转入预先装有 180  $\mu\text{L}$  Buffer DA 的 1.5 mL 离心管。

e. **细菌:** 取细菌培养液 1-5 mL, 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心 1 min, 尽量完全吸弃上清。

对于较难破壁的革兰氏阳性菌, 加入溶菌酶溶液进行破壁处理, 具体方法为: 加入 110  $\mu\text{L}$  缓冲液 (20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM  $\text{Na}_2\text{-EDTA}$ ; 1.2% Triton) 和 70  $\mu\text{L}$  溶菌酶溶液 (50 mg/mL, 自备), 37°C 处理 30 min 以上。

对于相对容易裂解的细菌, 可直接向菌体沉淀中加入 200  $\mu\text{L}$  Buffer DA, 振荡至菌体彻底悬浮。

2. (可选步骤) 如果需要去除 RNA (细胞、组织和细菌需去除 RNA), 可加入 4  $\mu\text{L}$  RNase A (100 mg/mL) 溶液。振荡 15 sec, 室温放置 5 min。

3. 加入 20  $\mu\text{L}$  Proteinase K, 涡旋振荡混匀。

a. 提取样本为血液、细胞或细菌, 只需加入 Proteinase K 充分混匀, 即可继续进行下一步。

b. 提取样本为动物组织, 加入 Proteinase K, 涡旋振荡混匀。56°C 孵育直至组织完全溶解, 短暂离心以收集管盖内壁上的溶液, 即可进行下一步。

**注: 不同组织裂解时间不同, 通常需 1-3 h 即可完成 (鼠尾需要消化 6-8 h, 必要时消化过夜), 不影响后续操作。**

4. 加入 200  $\mu\text{L}$  Buffer DLB, 充分颠倒混匀, 70°C 孵育 10 min, 短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。

**注: 加入 Buffer DLB 时可能会产生白色沉淀, 一般 70°C 孵育时会消失, 不影响后续实验。**

5. 加入 200  $\mu\text{L}$  无水乙醇, 混匀 (此时可能会出现沉淀), 将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱 Spin Column 4 (吸附柱放在收集管中), 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心 30 sec, 弃去滤液, 将吸附柱放回收集管中。

6. 加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer DW1 (首次使用瓶中加入 17 mL 的无水乙醇) 至吸附柱, 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心 30 sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

7. 加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer DW2 Plus (首次使用瓶中加入 48 mL 的无水乙醇) 至吸附柱, 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心 30 sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

8. 重复操作步骤 7 一次。

9. 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心 3 min, 倒掉收集管中的废液。

10. 将吸附柱转入一个新的 1.5 mL 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 60-200  $\mu\text{L}$  Buffer EB2, 室温放置 1 min, 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心 1 min, 得到 DNA 溶液。

**注: Buffer EB2 体积不应少于 60  $\mu\text{L}$ , 体积过小影响回收效率。如用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内 (可用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)。**

**DNA 溶液请于 -20°C 保存。**

## 常见问题及解决方案

常见问题	原因	解决方案
柱子堵塞	1. 样本投入量太多	请按照兼容范围投入样本。
	2. 样本裂解不充分	延长 56°C 水浴时间，增加颠倒混匀次数。
DNA 产量低	1. 样本被反复冻融	避免反复冻融样本，推荐使用新鲜样本或只冻融过一次的样本。
	2. 动物组织裂解不充分	组织块尽量剪碎或液氮研磨，提取时使样本及时与 Buffer DA 及 Proteinase K 充分混匀，且可适当延长 56°C 水浴裂解时间。
	3. 未完全将裂解混合物转移至吸附柱内	细胞裂解后加无水乙醇，溶液中会出现絮状沉淀，需要将其同溶液一起转移至吸附柱内。
	4. 洗脱液问题	请使用试剂盒自带的 Buffer EB2 洗脱，若用 ddH <sub>2</sub> O 或其他洗脱液，确认洗脱液 pH 值在 7.0 - 8.0 之间。可提前将 Buffer EB2 预热至 55°C 后再进行洗脱，有利于提高 DNA 得率。
	5. 洗脱效率低	洗脱液需滴加于膜中央位置；增加洗脱体积或洗脱次数。
	6. Buffer DW1/DW2Plus 未添加无水乙醇	按瓶身标签所示，加入指定体积的无水乙醇至 Buffer DW1 和 Buffer DW2Plus 中。
DNA 纯度低	1. 杂蛋白污染	未使用 Buffer DW1 漂洗，或 Buffer DW1 中未加入正确体积的无水乙醇。请按瓶身标签加入指定体积的无水乙醇后操作。
	2. 杂质离子污染	未使用 Buffer DW2 Plus 漂洗，或只漂洗一次。请按照说明书使用 Buffer DW2 Plus 漂洗两次。