

Version: AA 4.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Blood/Tissue/Cell DNA Kit

全血/组织/细胞基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA0901、AA0902

01/产品组分

序号	组分	50 次	200 次	50 次	200 次
		AA0901-A	AA0901-B	AA0902-A	AA0902-B
1	平衡液	5 mL	20 mL	5 mL	20 mL
2	裂解液 TL	11 mL	40 mL	11 mL	40 mL
3	缓冲液 BB	10 mL	40 mL	10 mL	40 mL
4	结合液 CB	15 mL	60 mL	15 mL	60 mL
5	抑制物去除液 IR	25 mL	100 mL	25 mL	100 mL
6	漂洗液 WB	15 mL	25 mL×2	15 mL	25 mL×2
		60 mL	100 mL×2	60 mL	100 mL×2
7	洗脱缓冲液 EB	15 mL	15 mL×2	15 mL	15 mL×2
8	蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	-	-	1 mL	1 mL×4
9	吸附柱 AC	50 个	200 个	50 个	200 个
10	收集管 (2 mL)	50 个	200 个	50 个	200 个

02/保存条件

蛋白酶 K 溶液于-20°C保存; 其它组分室温 (15-25°C) 保存。

03/产品概述

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 1 h 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 μ L	3-10 μ g	1.7-1.9
禽类、两栖类全血	5-20 μ L	5-40 μ g	1.7-1.9
培养细胞	10^6 - 10^7 cells	5-30 μ g	1.7-1.9
动物组织	30 mg	10-30 μ g	1.7-1.9
小鼠尾	1.2 cm 尖部	10-25 μ g	1.7-1.9
大鼠尾	0.6 cm 尖部	20-40 μ g	1.7-1.9

04/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、

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）进行。
- ◇ 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℃ 水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 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。
- ◇ 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。
- ◇ 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！
- ◇ 为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者 4℃ 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。
- ◇ 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 μ L 的平衡液至柱中。12,000 rpm（13,400 \times g）离心 1 min，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℃ 使沉淀完全消失。

06/使用方案

1. 样本处理:

◆全血

a. 取200 μL 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液，放入1.5 mL离心管。

▲如果全血起始量小于200 μL ，则用缓冲液BB补足到200 μL 。如果起始量介于200 μL -300 μL 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 μL -1 mL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 μL ，可加缓冲液BB补足到200 μL 后进行后续步骤。

b. 加入20 μL 蛋白酶K（20 mg/mL）溶液，充分混匀，再加入200 μL 结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在70 $^{\circ}\text{C}$ 放置10 min。
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 μL 结合液CB前加20 μL RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。

c. 冷却后加入100 μL 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15 s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，12,000 rpm（13,400 \times g）离心60 s，弃废液。

e. 接操作步骤项下2。

◆组织培养细胞

a. 收集约 10^5 - 10^6 悬浮细胞到一个1.5 mL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10 s，使细胞沉淀下来。弃上清，留下细胞团和大约10-20 μL 残留的液体。

c. 加200 μL 1 \times PBS重悬洗涤细胞，12,000 rpm（13,400 \times g）离心10 s，使细胞沉淀下来。完全吸弃上清，将细胞沉淀重悬于180 μL 1 \times PBS中。

d. 加入20 μL 蛋白酶K（20 mg/mL）溶液，充分混匀，再加入200 μL 结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在70 $^{\circ}\text{C}$ 放置10 min。

▲可选步骤：如果RNA残留较多，需要去除RNA，可以在加入200 μL 结合液CB前加20 μL RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。

e. 冷却后加100 μL 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，12,000 rpm（13,400 \times g）离心60 s，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20-50 mg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 μL 组织裂解液TL的1.5 mL离心管中，用大口径枪头吹打混匀。

b. 加入20 μL 的蛋白酶K溶液（20 mg/mL），立刻涡旋振荡充分混匀。

c. 将裂解物放置在55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴1-3 h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 μL RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。

- d. 加入200 μL 结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，70 $^{\circ}\text{C}$ 放置10 min。
- e. 冷却后加100 μL 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1 mL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，12,000 rpm (13,400 \times g) 离心60 s，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0.2-0.5 cm的鼠尾巴尖（即20-50 mg）剪碎（一定要剪0-2 cm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 μL 组织裂解液TL的1.5 mL离心管中，用大口径枪头吹打混匀。
- b. 加入20 μL 的蛋白酶K（20 mg/mL），立刻涡旋振荡充分混匀。
- c. 将裂解物放置在55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴3 h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 μL RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。
- d. 用一个1 mL不带针头的输液器（或1 mL剪去枪尖的枪头）抽打裂解物2-3次。
- e. 加入200 μL 结合液CB和100 μL 异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀。
- f. 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心5 min，将上清加入用平衡液预处理过的吸附柱AC中，12,000 rpm (13,400 \times g) 离心30-60 s，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 μL 抑制物去除液 IR，12,000 rpm (13,400 \times g) 离心 30 s，弃废液。
3. 加入 600 μL 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm (13,400 \times g) 离心 30 s，弃废液，重复该步骤一遍。
4. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,000 rpm (13,400 \times g) 离心2 min，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 μL 洗脱缓冲液EB（洗脱缓冲液事先在65-70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热），室温放置3-5 min，12,000 rpm (13,400 \times g) 离心1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm (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 μL ，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 $^{\circ}\text{C}$ ，如果要长时间存放，可以放置在-20 $^{\circ}\text{C}$ 。

07/流程简图



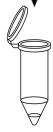
样本处理:

全血: 200 μL 血液, 不足200 μL , **缓冲液BB**补足至200 μL

细胞: 离心收集 10^5 - 10^6 悬浮细胞, 200 μL PBS洗涤细胞, 重悬于180 μL PBS中

组织: 20-50 mg剪碎或研磨的组织, 180 μL **裂解液TL**

鼠尾组织: 20-50 mg的鼠尾尖剪碎或液氮研磨, 180 μL **裂解液TL**



裂解: 组织: 20 μL **蛋白酶K**, 55°C 1-3 h

200 μL **结合液CB**, 100 μL 异丙醇, 混匀 (鼠尾需13,400 \times g离心 5min取上清)

全血、细胞: 20 μL **蛋白酶K**; 200 μL **结合液CB**, 70°C 10 min, 100 μL 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 μL **抑制物去除液IR**, 13,400 \times g离心30 s

去盐离子: 600 μL **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 μL **洗脱缓冲液EB** (65-70°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°C

08/相关产品

- AA1906 蛋白酶K (10 mg/mL)
- EA0001 红细胞裂解液 (即用型)
- AA1001 SPARKeasy 组织/细胞基因组DNA快速提取试剂盒
- AA1003 SPARKclassic 组织/细胞基因组DNA提取试剂盒 (小量)
- AC0202 SPARKeasy 组织/细胞RNA快速提取试剂盒 (含基因组DNA清除柱)
- AC0101 SparkZol Reagent
- AC0901 SPARKeasy 全血总RNA 快速提取试剂盒
- AC0902 SPARKeasy 冻存全血总RNA 快速提取试剂盒
- AC0903 SPARKeasy 超纯全血总RNA 快速提取试剂盒
- AF0802 2×SparkHiFi Max Master Mix (with dye)
- AF0803 2×SparkHiFi Max Master Mix (without dye)

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

