

Version: AA 4.0 (2024.02.22修订)

# SPARKeasy Blood DNA Kit

## 少量全血基因组DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA1101、AA1102

### 01/产品组分

序号	组分	50 次	200 次	50 次	200 次
		AA1101-A	AA1101-B	AA1102-A	AA1102-B
1	平衡液	5 mL	20 mL	5 mL	20 mL
2	缓冲液 BB	10 mL	40 mL	10 mL	40 mL
3	结合液 CB	15 mL	60 mL	15 mL	60 mL
4	抑制物去除液 IR	25 mL	100 mL	25 mL	100 mL
5	漂洗液 WB	15 mL	25 mL×2	15 mL	25 mL×2
		第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇			
		60 mL	100 mL×2	60 mL	100 mL×2
6	洗脱缓冲液 EB	15 mL	15 mL×2	15 mL	15 mL×2
7	蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	-	-	1 mL	1 mL×4
8	吸附柱 AC	50 个	200 个	50 个	200 个
9	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基因组 DNA, 可在 30 min 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, 再通过一系列快速的漂洗、离心的步骤, 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可能非常大, 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	100-500 $\mu\text{L}$	3-10 $\mu\text{g}$	1.7-1.9
	500-1000 $\mu\text{L}$	4-30 $\mu\text{g}$	1.7-1.9
禽类、两栖类全血	5-20 $\mu\text{L}$	5-40 $\mu\text{g}$	1.7-1.9

注：根据血液样品中白细胞数量和保存条件的差异，DNA 产量也会有所差异。

## 04/自备材料

抗凝剂、异丙醇、无水乙醇、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°C）下进行。
- ◇ 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 水浴几分钟帮助重新溶解，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。
- ◇ 第一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°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。开始实验前将需要的水浴先预热到 70°C 备用。
- ◇ 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  $\mu\text{L}$  的平衡液至柱中。12,000 rpm (13,400 $\times$ g) 离心 1 min，倒掉收集管中废液，将吸附柱重新放回收集管。此时平衡液预处理柱完毕。接后续的操作步骤。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。

## 06/使用方案

1. 取 200  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ ，则用缓冲液 BB 补足到 200  $\mu\text{L}$ 。如果起始量介于 200  $\mu\text{L}$ -300  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$ -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  $\mu\text{L}$ ，可加缓冲液 BB 补足到 200  $\mu\text{L}$  后进行后

续步骤。

2. 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°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。
3. 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。
4. 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，12,000 rpm (13,400×g) 离心30-60 s，倒掉收集管中的废液。
5. 加入500 μL抑制物去除液IR，12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s，弃废液。
6. 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×g) 离心30 s，弃废液，重复漂洗一遍。
7. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,000 rpm (13,400×g) 离心2 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
8. 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（事先在65-70°C水浴中预热效果更好），室温放置3-5 min，12,000 rpm (13,400×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×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。
9. DNA可以存放在2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在-20°C。

## 07/流程简图



全血：200 μL血液，缓冲液BB补足至200 μL



去蛋白：20 μL蛋白酶K，200 μL 结合液CB  
柱平衡：100 μL异丙醇，100 μL 平衡液至吸附柱AC



去抑制物：500 μL抑制物去除液IR，13,400×g离心30 s  
去盐离子：600 μL漂洗液WB（请先检查是否加入无水乙醇！）  
13,400×g离心30 s，两次  
去残留乙醇：13,400×g空甩2 min



洗脱：50-100 μL洗脱液缓冲液EB（65-70°C预热）  
室温静置3-5 min，13,400×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)
- AA0901 SPARKeasy 全血/组织/细胞基因组DNA快速提取试剂盒
- 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](mailto:support@sparkjade.com)

