

细胞/血液基因组 DNA 快速提取试剂盒

一、产品简介

本试剂盒采用独特的裂解液 Buffer QL 裂解细胞释放 DNA; 加入乙醇调整 DNA 结合条件, 释放的 DNA 被选择性吸附到硅胶膜上。

本试剂盒适合从 5×10^5 - 1×10^7 动物培养细胞或者淋巴细胞, 50-200 μ l 哺乳动物抗凝全血, 1-50 μ l 禽类鸟类和两栖类抗凝全血中快速提取多至 5 μ g DNA, 以处理 4 个样品为例, 可以在 15 分钟内完成提取过程。获得的 DNA 长度介于 20-30 kb, 适合用于 PCR。

含血凝块或者大量血纤维的血液(抗凝不充分、冻存时间超过 6 个月的血液或者反复冻融多次的血液)不适合使用本试剂盒提取 DNA, 建议使用 DK601(处理 50-400 μ l 血液), DK602(处理 0.4-1 ml 血液)或者 DK603(处理 1-2 ml 血液), 获得的 DNA 可满足芯片和质谱的要求。

肝素抗凝的血液, 建议使用 DK602 或者 DK603。

二、试剂盒组成和储存

组成内容	DK622-01 (50 次)	DK622-02 (200 次)	原理与用途
Buffer QL	25 ml	100 ml	裂解细胞、释放 DNA
Buffer WAG	30 ml	120 ml	洗涤去除蛋白
Buffer WB1 [§]	16 ml	65 ml	洗涤去除盐
DNA 吸附柱-CQ	50 个	200 个	选择性吸附 DNA
收集管	50 个×3	200 个×3	接收废液
1.5 ml 离心管(用于洗脱)	50 个	200 个	接收洗脱的 DNA
TE [*]	15 ml	30 ml	洗脱 DNA
说明书	1 份	1 份	

[§]Buffer WB1: 第一次使用前按试剂瓶所示体积加入无水乙醇, 混合均匀。

^{*}TE: 10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, 0.025%NaN₃, pH 8.0(25°C)。

试剂盒所有组成成分均于室温储存。

三、注意事项

- 血液样品短期保存: 加入抗凝剂后充分混合均匀, 2-8°C 可保存 10 天, 基因组 DNA 完整性和产量随放置时间延长而下降。
- 血液样品长期保存: 加入抗凝剂后充分混合均匀, -70°C 保存。使用时应减少反复冻融, 可在冻存前按所需使用体积分装。
- 冻存血液应在室温或者 37°C 缓慢解冻, 不可高温加热, 以免血凝块形成; 将冻存血置于 37°C 摇床中 150-200rpm 融化血液效果最佳, 可减少血凝块的形成。也可以提前一天将血液放在 4°C 解冻, 第二天摇晃均匀后恢复至室温。
- Buffer QL 和 Buffer WAG 含刺激性化合物, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服、谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛, 立即使用大量水或生理盐水冲洗沾染处, 必要时寻求医疗咨询。
- 每次使用后应及时盖紧试剂瓶盖, 以免影响下次使用效果, 尤其是 Buffer WAG 和添加乙醇后的 Buffer WB1。
- 操作步骤 7, 如果离心机转子没有盖子或者使用气密型盖子, 在将 1.5 ml 离心管盖子扣在 DNA 吸附柱上后, 务必去除 DNA 吸附柱的盖子(剪掉或者拧断, 见 Page2-2 图示); 因为高速离心时未扣在 DNA 吸附柱上的盖子容易脱落, 造成安全隐患。

四、实验准备

- 第一次使用前, 按试剂瓶所示体积在 Buffer WB1 中加入无水乙醇, 混合均匀。
- 95-100% 乙醇。
- 可选: 56-70°C 预热 TE 或者去离子水(pH \geq 7.0), 可以提高洗脱效率。
- Buffer QL 可能会析出乳白色凝集物, 需 56°C 加热溶解, 或使用前摇晃均匀。

五、操作步骤

如未注明，所有离心参数为使用台式快速离心机，室温 12,000-16,000×g；如离心机转速只能设定为 rpm，设定为低于最高转速 1,000 rpm；

1. 根据样品种类选择操作步骤

A. 5×10^5 - 1×10^7 悬浮培养的动物细胞、已分离的淋巴细胞或者分散的动物组织细胞等

估算细胞数，3,000×g 离心 5 min，弃尽上清；加入 100 μl 去离子水或者 TE 悬浮细胞；加入 **450 μl Buffer QL**，剧烈摇晃 20 次，继续操作步骤 2；

B. 5×10^5 - 1×10^7 贴壁培养的细胞

用温和的方法（例如胰蛋白酶消化）处理成细胞悬液。用干净的 1.5 ml 离心管，3,000×g 离心 5 min，弃尽上清；加入 100 μl 去离子水或者 TE 悬浮细胞；加入 **450 μl Buffer QL**，剧烈摇晃 20 次，继续操作步骤 2；

C. 哺乳动物抗凝血液

在干净的 1.5 ml 离心管中加入 **450 μl Buffer QL**，加入 50-200 μl 抗凝全血或者白膜层细胞，剧烈摇晃 20 次，继续操作步骤 2；

D. 禽类鸟类和两栖类抗凝全血

在干净的 1.5 ml 离心管中加入 **450 μl Buffer QL**，加入 1-50 μl 禽类鸟类和两栖类抗凝全血，剧烈摇晃 20 次，继续操作步骤 2；

2. 加入 **100 μl 95-100%乙醇**，缓慢摇晃 20 次，以消除步骤 1 产生的大量泡沫（！请勿离心）。

3. 将步骤 2 中的溶液转入 DNA 吸附柱-CQ(置于收集管中)，离心 1 min，将 DNA 吸附柱-CQ 转入另一个干净的收集管。

4. 加 **500 μl Buffer WAG**，离心 1 min，将 DNA 吸附柱-CQ 转入另一个干净的收集管。

5. 加 **500 μl Buffer WB1**，离心 1 min，弃废液，将 DNA 吸附柱-CQ 放回收集管中。

6. 加 **100 μl Buffer WB1**，离心 2 min。

7. 将 DNA 吸附柱-CQ 转入试剂盒携带的 1.5 ml 离心管中，在硅胶膜中央加≥25 μl TE 或去离子水(pH≥7.0)，

将 1.5 ml 离心管盖(A)扣在 DNA 吸附柱上，做好标记，去除 DNA 吸附柱的盖子(B)。

室温放置 1-2min 或更长时间，离心 1 min。

55℃ 预热 TE 或去离子水(pH≥7.0)，可以提高洗脱效率。

如使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至≥7.0。

离心结束后将 1.5 ml 离心管中的洗脱液加到硅胶膜的中央，或者再加入≥25 μl TE 或去离子水，重复此步骤，

可以提高洗脱效率。

