

柱式法血液/细胞/组织基因组 DNA 提取试剂盒 说明书

货 号:

TRS0724-050

TRS0724-200

一、试剂盒简介

本柱式法血液 / 细胞 / 组织基因组 DNA 提取试剂盒，专为从多种细胞样本中高效获取高质量基因组 DNA 而设计。其核心技术是利用离心吸附柱对 DNA 的特异性结合能力，搭配独特的缓冲液体系，能高效地从样本中分离出 DNA，并有效去除杂质蛋白和其他有机化合物，确保提取的基因组 DNA 片段完整、纯度高、质量稳定可靠。所提取的 DNA 适用于各类常规分子生物学实验，如酶切分析、聚合酶链式反应（PCR）、文库构建、Southern 杂交等。

二、提取得率

材料	提取量	DNA 得量
哺乳动物全血	100~400 μ L	3-10 μ g
禽类、两栖类全血	5~20 μ L	5-40 μ g
动物细胞培养液	$10^6 \sim 10^7$ cells	5-30 μ g
动物组织	30mg	10-30 μ g

三、试剂盒规格及组分

组分名称	TRS0724-050	TRS0724-200
缓冲液 A	15 mL	50 mL
裂解液 B	15 mL	50 mL
蛋白漂洗液 D	10 mL	40 mL
漂洗液 W	12 mL	48 mL
洗脱液	12 mL	60 mL
蛋白酶 K	1 mL	4 $\times$ 1 mL
吸附柱 C	50	200
收集管(2 mL)	50	200

四、保存与运输条件

保存条件：试剂盒所有组分应在室温 15~30℃的干燥环境下储存，保质期为 12 个月。若试剂盒中的溶液出现沉淀，使用前将其置于 37℃水浴中预热 10 分钟，待沉淀完全溶解后，充分摇匀即可使用，会影响实验效果。

运输条件：试剂盒常温运输。

五、注意事项

1. **首次使用准备：**首次开启试剂盒时，需依据试剂瓶标签的指示，在蛋白漂洗液 D 和漂洗液 W 中准确加入无水乙醇。
2. **样本处理：**样本应避免反复冻融，反复冻融可能会导致 DNA 片段断裂变小，降低 DNA 的提取量，影响实验结果。
3. **缓冲液处理：**若缓冲液 A 或裂解液 B 中出现沉淀，可将其放入 37℃ 水浴中，待沉淀完全溶解后，充分振荡摇匀再使用，以保证缓冲液的均一性和有效性。
4. **离心操作：**整个实验过程中的所有离心步骤，均需使用台式离心机，并在室温条件下进行离心，严格按照规定的转速和时间操作，确保实验的准确性和重复性。

六、操作步骤

(一) 样本预处理

1. **血液样本：**若提取材料为血液，可直接取用 200 μL 新鲜血液、冷冻血液或添加抗凝剂的血液。若血液样本体积不足 200 μL ，需用缓冲液 A 补足至 200 μL 。对于禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液样本，因其红细胞含有细胞核，处理量为 5~20 μL ，同样需用缓冲液 A 补足至 200 μL 后，再进行后续裂解步骤。
2. **细胞样本：**贴壁培养的细胞，应先通过合适的方法使其脱离培养皿表面，制成细胞悬液。随后，将细胞悬液转移至离心管中，以 10,000 rpm（约 11,200 $\times g$ ）的转速离心 1 分钟。小心倒掉上清液，加入 200 μL 缓冲液 A，通过振荡使细胞充分悬浮，确保细胞与缓冲液 A 均匀混合。
3. **组织样本：**动物组织（脾组织用量应少于 10 mg）在处理前需先进行破碎，可使用适当的组织破碎工具将其制成细胞悬液。接着，将细胞悬液以 10,000 rpm（约 11,200 $\times g$ ）的转速离心 1 分钟，倒掉上清液，加入 200 μL 缓冲液 A，振荡至细胞完全悬浮。

 **注：**若实验需要去除 RNA，可在上述悬浮液中加入 5 μL RNA 酶 A（10 mg/mL）溶液（客户自备）。加入后，迅速振荡 15 秒，使溶液充分混合，然后在室温下放置 5 分钟，以实现 RNA 的有效去除。

(二) 蛋白酶 K 处理

向预处理后的样本溶液中加入 20 μL 蛋白酶 K 溶液，使用移液器轻轻吹打或涡旋振荡，使蛋白酶 K 与样本溶液充分混匀。

1. **血液基因组提取：**加入蛋白酶 K 并混匀后，无需其他额外操作，可直接进入下一步实验。
2. **细胞基因组提取：**同样，在加入蛋白酶 K 并充分混匀后，即可进行后续步骤。
3. **组织基因组提取：**对于组织样本，加入蛋白酶 K 混匀后，将离心管放置在金属浴中，在 56°C 的条件下孵育。孵育过程中，需密切观察组织的溶解情况，直至组织完全溶解。孵育期间，每小时将离心管颠倒混合 2~3 次，以促进组织的充分裂解；若条件允许，也可使用水浴振荡器辅助混匀。组织完全溶解后，短暂离心，去除管盖内壁的水珠，再进行下一步操作。不同组织的裂解时间有所不同，通常 1~3 小时即可完成，但鼠尾组织由于结构特殊，需要消化过夜。不过，无论裂解时间长短，均不会对后续实验操作造成影响。

(三) 裂解液 B 处理

向上述含有蛋白酶 K 的样本溶液中加入 200 μL 裂解液 B，加入后立即充分颠倒混匀，确保裂解液 B 与样本溶液均匀混合。然后，将离心管放入 70°C 的水浴中放置 10 分钟。在此过程中，溶液应逐渐变为清亮状态。10 分钟后，从水浴中取出离心管，短暂离心，去除管盖内壁的水珠。

 **注：**加入裂解液 B 时，溶液中可能会出现白色沉淀，这属于正常现象。一般情况下，在 70°C 水浴放置过程中，沉淀会逐渐消失，不会对后续实验产生影响。若溶液在 70°C 水浴 10 分钟后仍未变清亮，表明细胞裂解不彻底。这可能会导致提取的 DNA 量减少，且提取出的 DNA 纯度不高。此外，当血液体积 $\leq 200 \mu\text{L}$ 且未进行红细胞裂解处理，或者样本储存条件不理想时，水浴后的溶液颜色可能会变为深褐色，注意溶液中没有团块等沉淀。

(四) 无水乙醇处理

向经过裂解液 B 处理的样本溶液中加入 200 μL 无水乙醇，加入后迅速充分振荡混匀 15 秒。此时，溶液中可能会出现絮状沉淀，这是正常的反应现象。振荡混匀后，短暂离心，去除管盖内壁的水珠。

(五) 吸附柱吸附

将上一步所得的溶液及絮状沉淀全部转移至吸附柱 C 中（确保吸附柱已预先放入收集管中）。将装有样本的吸附柱放入离心机，以 12,000 rpm（约 13,400×g）的转速离心 30 秒。离心结束后，小心倒掉收集管中的废液，然后将吸附柱 C 放回原收集管中。

(六) 蛋白漂洗液 D 洗涤

向吸附柱 C 中加入 500 μL 蛋白漂洗液 D（使用前务必再次检查是否已按要求加入无水乙醇）。加完后，将吸附柱放入离心机，以 12,000 rpm（约 13,400×g）的转速离心 30 秒。离心结束后，倒掉收集管中的废液，再将吸附柱 C 放回收集管。

(七) 漂洗液 W 洗涤

向吸附柱 C 中加入 500 μL 漂洗液 W（使用前同样要检查是否已加入无水乙醇）。然后，以 12,000 rpm（约 13,400×g）的转速离心 30 秒，倒掉废液后，将吸附柱 C 放回收集管。重复此洗涤步骤一次，以确保吸附柱得到充分洗涤，有效去除杂质。

(八) 干燥吸附柱

将经过两次漂洗液 W 洗涤后的吸附柱 C 放回收集管中，以 12,000 rpm（约 13,400×g）的转速离心 2 分钟，尽量去除吸附柱中的残留液体。离心结束后，将吸附柱 C 从收集管中取出，置于室温下放置数分钟，使吸附材料中残余的漂洗液彻底挥发干燥。

✚ 注：此干燥步骤至关重要，因为漂洗液中的乙醇残留会对后续的酶反应实验（如酶切、PCR 等）产生抑制作用，影响实验结果的准确性，所以务必确保吸附柱充分干燥。

(九) DNA 洗脱

将干燥后的吸附柱 C 转移至一个新的离心管中。使用移液器向吸附膜的中间部位悬空滴加 50~200 μL 洗脱液。室温放置 2~5 分钟，使洗脱液与吸附膜上的 DNA 充分接触，促进 DNA 的洗脱。然后，以 12,000 rpm（约 13,400×g）的转速离心 2 分钟，此时含有 DNA 的洗脱液会被收集到离心管中。

✚ 注：洗脱缓冲液的体积不应少于 50 μL，若体积过小，会导致洗脱不充分，影响 DNA 的回收效率。洗脱液的 pH 值对洗脱效率影响显著，若使用 ddH₂O 作为洗脱液，应确保其 pH 值在 7.0~8.5 之间。当 pH 值低于 7.0 时，洗脱效率会明显降低。此外，为了提高基因组 DNA 的得率，可将第一次离心收集到的洗脱液再次加入吸附柱 C 中，室温放置 2 分钟后，再次以 12,000 rpm（约 13,400×g）的转速离心 2 分钟，进一步回收 DNA。DNA 产物应储存于 -20℃ 的环境中，以防止 DNA 降解，确保其稳定性。



七、免责声明

试剂盒仅供研究使用，不得用于临床实验或人体实验，否则所产生的一切后果，由实验者承担，本公司概不负责。严格按照说明书操作，实验者违反说明书操作，后果由实验者承担。

