

快速DNA微量提取试剂盒

(使用说明书 Ver.0.0.2)

产品说明

- ◇ 使用创新的纯化柱技术，在不到 15 分钟的时间内从全血、血浆、血清、体液、血沉棕黄层、淋巴细胞、拭子或培养细胞中快速纯化高质量 DNA。
- ◇ 兼容常用抗凝剂（即，EDTA，肝素，柠檬酸盐）。
- ◇ 独特的提取技术无需使用蛋白酶 K 和有机变性剂。
- ◇ 提取得到的 DNA 可直接用于 PCR，酶切，亚硫酸盐转化/甲基化检测，测序，基因分型等

产品货号：

TD3020（50次反应） TD3021（200次反应）



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
试剂准备	1
操作流程	2
全血，血清和血浆样本	2
口腔细胞和拭子	2
固体组织样本	2
单层细胞样品	3
细胞悬液和蛋白酶K消化样本	3
DNA/RNA 保护剂中的样品	4
蛋白酶K与DNA/RNA保护剂处理的样本	4
组件查询	5

产品组份

试剂盒组成	TD3020（50次）	TD3021（200次）	保存
基因组DNA裂解液	50ml	100ml×2	室温
基因组DNA洗涤液1	15 ml	50 ml	室温
基因组DNA洗涤液2	50 ml	100 ml	室温
DNA洗脱液	10 ml	10 ml×2	室温
1号C纯化柱	50 个	50个×4	室温
2ml收集管	50 个×2	200个×2	室温

注意事项

- ✧ 简石生物产品仅供研究使用，并应由专业人员操作。本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。售出后一年内产品可质保。 试剂盒已经过大量的常规检测来保证其可操作性。
- ✧ 使用前在基因组DNA裂解液中加入 β- 巯基乙醇，使其终浓度为 0.5%（v/v），即每 50 ml 加入 250μl，或每 100ml加入 500 μl。
- ✧ 基因组DNA裂解液、基因组DNA洗涤液1在运输过程中可能会形成沉淀。要完全重悬该缓冲液，请将瓶子在 30-37℃下孵育 30 分钟，然后颠倒混匀。请勿使用微波炉加热。

产品特性

- ✧ 样品来源 -人类、小鼠、大鼠等的全血、血浆或血清，培养细胞，口腔细胞，以及各种生物体液。
- ✧ 提取流程-独特的裂解缓冲系统无需使用蛋白酶 K 消化。
- ✧ DNA 纯度-高质量的 DNA。提取到的 DNA 特别适合于 PCR 和其他下游应用。A260 / A280 > 1.8。
- ✧ DNA 片段-能够回收≥40kb 的基因组 DNA。在大多数情况下，样本中的线粒体 DNA 和病毒 DNA（如果存在）也会被回收。
- ✧ DNA 回收率-高达 5μg 的总 DNA 被洗脱到≥10μl（最小 6μl）DNA 洗脱液或水中。人类全血通常每 50μl 血样产生 1.5-3.5μg DNA。已经均质化的哺乳动物组织产量：每毫克骨骼、心脏和脑组织 DNA 1-3μg，每毫克肝脏、肾脏和肺组织 DNA 3-5μg。
- ✧ 设备-微离心机和涡旋仪

试剂准备

建议：将 β -巯基乙醇（用户提供）添加到基因组DNA裂解液中，最终稀释为0.5%(v/v)，即每50 ml，250 μ l或每100 ml，500 μ l。

操作流程

全血，血清和血浆样本

以下是从50 μ l全血，血清或血浆中纯化DNA（根据您的要求，体积可调整到100 μ l（最大））。可以使用新鲜、冷冻或保存的血液（兼容EDTA、柠檬酸盐或肝素等采血管）。

- A. 在50 μ l血液、血清或血浆中加入200 μ l基因组DNA裂解液（4:1）。涡旋4-6秒完全混合，然后在室温下静置5-10分钟。
- B. 将混合物转移到收集管中的1号C纯化柱中。 $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟。丢弃收集管。
- C. 将1号C纯化柱转移到新的收集管。向纯化柱中加入200 μ l 基因组DNA洗涤液1。 $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟。
- D. 向纯化柱中加入500 μ l基因组DNA洗涤液2。 $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟。
- E. 将纯化柱转移到干净的离心管中。向纯化柱中加入 $\geq 10\mu$ l的DNA洗脱液或水。室温孵育2-5分钟后， $\geq 10,000 \times g$ 离心30秒，洗脱DNA。洗脱的DNA可立即用于下游分子实验或存储在 $\leq -20^{\circ}\text{C}$ 以备将来使用。

注：1.当处理富含蛋白质的样本（如组织、全血等）时，为了达到最佳效果，建议向基因组裂解缓冲液中添加 β - 巯基乙醇（BME）。如果不添加 β - 巯基乙醇，请确保在纯化前将样本在基因组裂解缓冲液中充分匀浆。

2. 为了从血清中获取小片段 DNA，需向混合物中加入 0.3 倍体积的异丙醇。（例如，对于 1 ml血清和基因组裂解缓冲液的混合物，需加入 300 μ l异丙醇。）

3. 对于所有体积小于 50 μ l的样本，均需加入 200 μ l基因组裂解缓冲液。

4. 该纯化柱的容量为 800 μ l。

5. 从纯化柱上洗脱 DNA 取决于 pH 值和温度。如果使用水进行洗脱，要确保 pH 值大于 6.0。此外，使用预热至 60-70 $^{\circ}\text{C}$ 的洗脱缓冲液或水来洗脱 DNA，可能会提高总回收率。

口腔细胞和拭子

A. 冲洗方法：用 10- 20ml 生理盐水或漱口水用力冲洗 30 秒。冲洗的力度越大，收集的细胞就越多。将生理盐水吐入 50 毫升试管中，以 1500rpm 离心 5 分钟使细胞成团。在不干扰细胞团的情况下丢弃上清。向沉淀中加入 500 μ l 基因组 DNA 裂解液，旋涡 4-6 秒，室温静置 5-10 分钟。

B. 拭子分离方法：应在取样前漱口。用口腔拭子刷口腔内侧15秒（大约20次），确保刷遍整个口腔内侧。用500µl基因组DNA裂解液将拭子冲洗，收集液体到离心管中，涡旋4-6秒，室温静置5-10分钟。

1. 将混合物转移到收集管中的1号C纯化柱中。≥10,000 x g离心1分钟。丢弃收集管。
2. 将纯化柱转移到新的收集管。向纯化柱中加入200µl 基因组DNA洗涤液1。≥10,000 x g离心1分钟。
3. 向纯化柱中加入500µl 基因组DNA洗涤液2。≥10,000 x g离心1分钟。
4. 将纯化柱转移到干净的离心管中。向纯化柱中加入≥10µl DNA洗脱液或水。室温孵育2-5分钟后，≥10,000 x g离心30秒，洗脱DNA。洗脱的DNA可立即用于下游分子实验或存储在≤-20°C以备将来使用。

固体组织样本

对于蛋白酶K消化的样本，请遵循细胞悬液和蛋白酶K消化样品的方案。或者，在500µl基因组DNA裂解液中破碎均质5mg新鲜或冷冻组织。

1. ≥10,000 x g离心裂解液5分钟。确保不干扰颗粒状碎片，将上清转移到收集管中的1号C纯化柱上，以≥10,000 x g离心1分钟。丢弃收集管。
2. 将纯化柱转移到新的收集管。向纯化柱中加入200µl 基因组DNA洗涤液1。≥10,000 x g离心1分钟。
3. 向纯化柱中加入500µl 基因组DNA洗涤液2。≥10,000 x g离心1分钟。
4. 将纯化柱转移到干净的离心管中。向纯化柱中加入≥10µl DNA洗脱液或水。室温孵育2-5分钟，然后以最高速度离心30秒洗脱DNA。洗脱的DNA可立即用于下游分子实验或存储在≤-20°C以备将来使用。

单层细胞样品

以下程序设计用于最多 1.0×10^6 （最大）个单层细胞（大致等于6孔板的一个孔）。虽然细胞类型和培养条件可能有所不同，但该方案同样适用于高密度生长细胞（如HeLa细胞）和低密度生长细胞（如神经元细胞）。该程序可按比例放大或缩小，以增加或减少单层细胞的取样量（见下面的单层细胞DNA分离指南）。

1. 使用胰蛋白酶或手工从培养瓶或培养皿的生长表面刮掉粘附细胞。将细胞悬液以约500 x g离心5分钟。去除上清，直接向细胞沉淀中加入400µl基因组DNA裂解液。将颗粒重悬4-6秒，在室温下静置5-10分钟。
2. 将混合物转移到收集管中的1号纯化C柱。≥10,000 x g离心1分钟。丢弃收集管。
3. 将纯化柱转移到新的收集管。向纯化柱中加入200µl 基因组DNA洗涤液1。≥10,000 x g离心1分钟。
4. 向纯化柱中加入500µl 基因组DNA洗涤液2。≥10,000 x g离心1分钟。

5. 将纯化柱转移到干净的离心管中。向纯化柱中加入 $\geq 10\mu\text{l}$ DNA洗脱缓冲液或水。室温孵育2-5分钟后， $\geq 10,000 \times g$ 离心30秒，洗脱DNA。洗脱的DNA可立即用于下游分子实验或存储在 $\leq -20^\circ\text{C}$ 以备将来使用。

表1：培养板/烧瓶生长面积（ cm^2 ）和细胞数

培养容器	孔板/培养瓶表面积	细胞数
96孔板（每个孔）	0.32-0.6 cm^2	$4-5 \times 10^4$
24孔板（每个孔）	2 cm^2	$1-3 \times 10^5$
12孔板（每个孔）	4 cm^2	$4-5 \times 10^5$
6孔板（每个孔）	9.5 cm^2	$0.5-1 \times 10^6$
T25培养瓶	25 cm^2	$2-3 \times 10^6$
T75培养瓶	75 cm^2	$0.6-1 \times 10^7$
T175培养瓶	175 cm^2	$2-3 \times 10^7$

细胞悬液和蛋白酶K消化样本

以下方案设计用于高达200 μl 的生物液体样品，包括CSF，血沉棕黄层，体液（精液）和含有小于 1.0×10^6 细胞的细胞悬浮液以及蛋白酶K消化样品衍生的裂解物。

1. 每体积液体样品加入4体积基因组DNA裂解液（4:1）。（例如，在100 μl 的液体样品中加入400 μl 的基因组DNA裂解液，涡旋，然后在室温下静置5-10分钟。
2. 将混合物转移到收集管中的1号C纯化柱中。 $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟。丢弃收集管。
3. 将纯化柱转移到新的收集管。向纯化柱中加入200 μl 基因组DNA洗涤液1。 $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟。
4. 向纯化柱中加入500 μl 基因组DNA洗涤液2。 $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟。
5. 将纯化柱转移到干净的离心管中。向纯化柱中加入 $\geq 10\mu\text{l}$ 的DNA洗脱液或水。室温孵育2-5分钟后， $\geq 10,000 \times g$ 离心30秒，洗脱DNA。洗脱的DNA可立即用于下游分子实验或存储在 $\leq -20^\circ\text{C}$ 以备将来使用。

DNA/RNA 保护剂中的样品

DNA/RNA 保护剂可确保在环境温度下样品储存/运输期间核酸的稳定性。不需要冷藏或专门的设备。DNA/RNA 保护剂可有效地裂解细胞并使核酸酶和感染因子（病毒）失活，并且它与各种收集和存储设备（真空容器、拭子、鼻、口腔、粪便等）兼容。

1. 根据DNA/RNA 保护剂样本规格（4:1），将400 μl 基因组DNA裂解液添加到100 μl 样品/保护剂混合物中。
2. 通过涡旋4-6秒完全混合，然后在室温下静置5-10分钟。
3. 将混合物转移到收集管中的1号C纯化柱中。 $\geq 10,000 \times g$ 离心1分钟。丢弃收集管。

4. 将纯化柱转移到新的收集管。向纯化柱中加入200μl 基因组DNA洗涤液1。≥10,000 x g离心1分钟。
5. 向纯化柱中加入500μl 基因组DNA洗涤液2。≥10,000 x g离心1分钟。
6. 将纯化柱转移到干净的离心管中。向纯化柱中加入≥10μl DNA洗脱液或水。室温孵育2-5分钟后，≥10,000 x g离心30秒，洗脱DNA。洗脱的DNA可立即用于下游分子实验或存储在≤-20°C以备将来使用。

蛋白酶K与DNA/RNA保护剂处理的样本

1. 将300μl的DNA/RNA 保护剂加入≤5 mg的固体组织样品中。组织样品可以破碎研磨均质，以获得最佳的提取效果。
2. 在样品中加入30 μl PK缓冲液和15 μl蛋白酶K。
3. 混合，然后在55°C孵育，直到组织溶解（最多孵育5小时）。
4. 每体积蛋白酶K消化样本加入4体积的基因组DNA裂解液（4:1）。（例如，在300μl消化液中加入1200μl基因组DNA裂解液）。涡旋，然后在室温下静置5-10分钟。≥10,000 x g离心5分钟。
5. 将800μl上清液转移到收集管中的1号C纯化柱中。≥10,000 x g离心1分钟，弃去滤液。对剩余的上清重复此步骤，并丢弃收集管。
6. 将纯化柱转移到新的收集管。向纯化柱中加入200μl 基因组DNA洗涤液1。≥10,000 x g离心1分钟。
7. 向纯化柱中加入500μl 基因组DNA洗涤液2。≥10,000 x g离心1分钟。
8. 将纯化柱转移到干净的离心管中。向纯化柱中加入≥10μl的DNA洗脱液或水。室温孵育2-5分钟后，≥10,000 x g离心30秒，洗脱DNA。洗脱的DNA可立即用于下游分子实验或存储在≤-20°C以备将来使用。

组件查询

组件名称	货号	规格	规格
基因组DNA裂解液	TD3004-1-50	50ml	室温
	TD3004-1-100	100ml	
基因组 DNA 洗涤液 1	TD3004-5-15	15 ml	室温
	TD3004-5-30	30 ml	
	TD3004-5-50	50 ml	
基因组 DNA 洗涤液 2	TD3004-2-50	50 ml	室温
	TD3004-2-100	100 ml	

DNA洗脱液	TD3004-4-10	10 ml	室温
1 号 C 纯化柱	TC1004-50	50个/包	室温
2ml收集管	TC1001-50	50个/包	室温
	TC1001-200	200个/包	