

HYCEZMBIO® Blood & Tissue & Cell Genomic DNA Kit

一步法血液/组织/细胞基因组 DNA 提取试剂盒

目录号：DHYC24

试剂盒组成

Component	DHYC24-01 (50 preps)	DHYC24-02 (100 preps)
Buffer LB	30 ml	60 ml
Buffer WB1	25 ml	50 ml
Buffer WB2	13 ml	25 ml
	第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	
Buffer TE	10 ml	15 ml
10× Buffer RCL	15 ml	30 ml
RNase A (25 mg/ml)	500 µl	1 ml
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

保存方法

室温（15-30℃）保存。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒是用于提取动物组织、培养细胞、血液等基因组 DNA 的一步法提取试剂盒。试剂盒采用特殊的细胞裂解系统，由细胞裂解液快速溶解核膜，释放 DNA，并使裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度 DNA，纯化过程无需苯酚/氯仿等有机试剂。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

标准抽提步骤

- 所有离心步骤均可在室温完成，使用普通台式离心机即可。
- 开始试验前请将需要的水浴或金属浴预热至 65°C 备用。
- 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！

1. 组织或细胞的裂解：

动物组织的裂解

- a) 取 5-25 mg 组织（脾脏组织用量应少于 10 mg）打碎处理成细胞悬液（液氮或组织研磨器）。
- b) 加入 600 μ l Buffer LB，涡旋振荡混匀，65°C 孵育 10-30 min，其间涡旋混匀数次帮助组织裂解。裂解完成后加入 10 μ l RNase A（25 mg/ml）溶液，室温放置 5 min 消化去除 RNA。
- c) 12,000 rpm（ \sim 13400 \times g）离心 3 min，沉淀不能裂解的组织碎片，吸取上清至新的离心管中，进行步骤 2。

培养细胞的裂解

- a) **贴壁细胞**：先用胰蛋白酶将贴壁细胞处理成细胞悬液，转移至 1.5 ml 离心管中，12,000 rpm 离心 30 s，吸弃上清，留下细胞团。
悬浮细胞/革兰氏阴性菌：收集约 10^5 - 10^6 个悬浮细胞或 10^6 - 10^8 个细菌细胞至 1.5 ml 离心管中，12,000 rpm 离心 1 min，吸弃上清，留下细胞团。
- b) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LB 和 10 μ l RNase A（25 mg/ml），用移液器反复吸打或涡旋振荡至彻底悬浮，室温放置 10 min，进行步骤 2。

全血的裂解

- a) **无核红细胞抗凝血（哺乳类动物）**：当血液体积 $<$ 100 μ l 时，直接加入 Buffer LB 补足至 400 μ l；当体积为 0.1-1 ml 时，加入两倍体积红细胞裂解液 Buffer RCL（试剂盒提供的 Buffer RCL 为 10x，使用前用去离子水稀释至 1x），颠倒混匀 10 次，12,000 rpm（ \sim 13,400 \times g）离心 1 min，倒弃红色上清，留下管底细胞核沉淀，再加入适量 Buffer RCL 重复裂解一
-

次。向细胞核沉淀中加入 400 μ l Buffer LB，用移液器反复吸打或涡旋振荡混匀，65 $^{\circ}$ C 孵育 10 min，进行步骤 2。

- b) **有核红细胞抗凝血（禽类、鸟类、两栖类等）**：取 5-10 μ l 抗凝血，加入 400 μ l Buffer LB，用移液器反复吸打或涡旋振荡混匀，65 $^{\circ}$ C 孵育 10 min，进行步骤 2。
- c) **哺乳动物凝血块**：取 0.1 g 凝固血块放入 1.5 ml 离心管中，用吸头尽量捣碎（或液氮研磨），加入 400 μ l Buffer LB，充分吸打或涡旋振荡混匀，65 $^{\circ}$ C 孵育 10 min，进行步骤 2。

2. 加入 0.5 倍上清体积的异丙醇，充分吸打混匀，可能会出现絮状沉淀，不影响后续操作。
3. 将上一步将得到的溶液和可能产生的沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱（Spin Columns AC）中，若一次不能将全部溶液加入吸附柱中，请分两次转入。12,000 rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。
4. 向吸附柱 AC 中加入 500 μ l 去蛋白液 Buffer WB1，12,000 rpm 离心 1 min，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。
5. 向吸附柱 AC 中加入 600 μ l Buffer WB2（**使用前请检查是否已加入无水乙醇!**），12,000 rpm 离心 1 min，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。
6. 重复步骤 5。
7. 将吸附柱 AC 放回收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，尽量除去残留的 WB2，弃掉收集管和废液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，可以将吸附柱开盖放置几分钟，以彻底晾干残余乙醇。

8. 将吸附柱 AC 放入一个新的 1.5 ml 离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100 μ l Buffer TE 或灭菌水，室温放置 3-5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。-20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

注意：1) Buffer TE 在 65 $^{\circ}$ C 中预热可以增加产量，DNA 产量较高时可将加入 TE 后的吸附柱短暂置于 65 $^{\circ}$ C 以使 TE 全部吸附在滤膜上充分溶解 DNA。也可用无菌水洗脱，但应确保其 PH 在 7.0-8.5 范围内。

2) 如果要提高 DNA 的终浓度，可以使用小于 100 μ l TE 洗脱，也可以将步骤 8 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上，再次离心洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1 μ g，推荐用 50 μ l Buffer TE 进行洗脱。