产品组分

组分名称	组分编号	规格 50 RXN	保存条件
Proteinase K（20 mg/mL）	RM30130	1.2 mL	RT
Buffer DA	RM30131	15 mL	RT
Buffer DLB	RM30132	15 mL	RT
Buffer DW1 *	RM30133	13 mL	RT
Buffer DW2 Plus **	RM30134	12 mL	RT
Buffer EB2	RM30153	15 mL	RT
Spin Column 4	RM30187	50 pk	RT
2 mL Collection Tubes	RM30188	50 pk	RT

*注：50 RXN Buffer DW1使用前加入17 mL无水乙醇。

**注：50 RXN Buffer DW2 Plus使用前加入48 mL无水乙醇。

产品说明

本试剂盒适合从各种血液/细胞/组织样品中快速简单地提取基因组 DNA，提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，稳定性好，可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。提取过程无需酚氯仿抽提，血液、细胞或组织经裂解液裂解和 Proteinase K 消化，然后在无水乙醇的调节下可与 Spin Column 4 结合，经过快速充分的洗涤去除残留的蛋白质和盐分等杂质，最后 DNA 溶解于 Buffer EB2 中。

产品特点

1. 通用提取动物组织、血液和细胞样本基因组 DNA。
2. 操作简单方便，单管提取时间不超过 20 min。
3. 提取的核酸质量高，纯度好，可适用于下游各种 PCR，酶切，芯片检测等实验。

保存条件

1. 本试剂盒所有组分可置于室温（15-25）℃干燥条件下保存 12 个月。
2. 使用前请检查 Buffer DA 和 Buffer DLB 是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将 Buffer DA 和 Buffer DLB 置于 37℃水浴重新溶解。

注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若需要去除 RNA，需自备试剂 RNase A（100 mg/mL）。
3. 若提取较难破壁的革兰氏阳性菌 DNA，需自备溶菌酶（50 mg/mL）和缓冲液（20 mM Tris, pH 8.0；2 mM Na_2-EDTA；1.2% Triton）

操作说明

自备材料

无水乙醇，1.5 mL 灭菌离心管

操作步骤

1. 样本处理

   注：本试剂盒除了较好提取血液、细胞和组织 DNA 外，还能从细菌中提取高质量的 DNA。

   a. **哺乳动物血液**：取 200 μL 新鲜或抗凝血液放入 1.5 mL 离心管中，直接按照步骤 2-10 进行操作，当血液不足 200 μL 时需用 Buffer DA 补足。

   b. **禽类、鸟类、两栖类血液**：取 5-20 μL 新鲜或抗凝血放入 1.5 mL 离心管中，用 Buffer DA 补足至 200 μL。

   c. **组织培养细胞**：收集约 10^5-10^6 个悬浮细胞（细胞总量不可超过 5×10^6 个）到一个 1.5 mL 离心管；对于贴壁细胞，应先用胰蛋白酶消化吹打下来。然后 12,000 rpm（~13,400×g）离心 1 min，弃上清，向细胞沉淀中加入 200 μL Buffer DA，振荡至彻底悬浮。

   d. **动物组织**：称取< 25 mg 动物组织（脾脏用量应少于 10 mg）经液氮研磨成细粉或用解剖刀切成小碎块，转入预先装有 180 μL Buffer DA 的 1.5 mL 离心管。

   e. **细菌**：取细菌培养液 1-5 mL，12,000 rpm（~13,400×g）离心 1 min，尽量完全吸弃上清。

   对于较难破壁的革兰氏阳性菌，加入溶菌酶溶液进行破壁处理，具体方法为：加入 110 μL 缓冲液（20 mM Tris, pH 8.0；2 mM Na_2-EDTA；1.2% Triton；自备）和 70 μL 溶菌酶溶液（50 mg/mL，自备），37℃处理 30 min 以上。

   对于相对容易裂解的细菌，可直接向菌体沉淀中加入 200 μL Buffer DA，振荡至菌体彻底悬浮。

2. （可选步骤）如果需要去除 RNA（细胞、组织和细菌需去除 RNA），可加入 4 μL RNase A（100 mg/mL）溶液。振荡 15 sec，室温放置 5 min。

3. 加入 20 μL Proteinase K，涡旋振荡混匀。

   a. 提取样本为血液、细胞或细菌，只需加入 Proteinase K 充分混匀，即可继续进行下一步。

   b. 提取样本为动物组织，加入 Proteinase K，涡旋振荡混匀。56℃孵育直至组织完全溶解，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液，即可进行下一步。

   注：不同组织裂解时间不同，通常需 1-3 h 即可完成（鼠尾需要消化 6-8 h，必要时消化过夜），不影响后续操作。

4. 加入 200 μL Buffer DLB，充分颠倒混匀，70℃孵育 10 min，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。

   注：加入 Buffer DLB 时可能会产生白色沉淀，一般 70℃孵育时会消失，不影响后续实验。

5. 加入 200 μL 无水乙醇，混匀（此时可能会出现沉淀），将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱 Spin Column 4（吸附柱放在收集管中），12,000 rpm（~13,400×g）离心 30 sec，弃去滤液，将吸附柱放回收集管中。

6. 加入 500 μL Buffer DW1（**首次使用瓶中加入 17 mL 的无水乙醇**）至吸附柱，12,000 rpm（~13,400×g）离心 30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

7. 加入 500 μL Buffer DW2 Plus（**首次使用瓶中加入 48 mL 的无水乙醇**）至吸附柱，12,000 rpm（~13,400×g）离心 30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。

8. 重复操作步骤 7 一次。

9. 12,000 rpm（~13,400×g）离心 3 min，倒掉收集管中的废液。

10. 将吸附柱转入一个新的 1.5 mL 离心管中，向**吸附膜的中间部位**悬空滴加 60-200 μL Buffer EB2，室温放置 1 min，12,000 rpm（~13,400×g）离心 1 min，得到 DNA 溶液。

    注：Buffer EB2 体积不应少于 60 μL，体积过小影响回收效率。如用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内（可用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围）。DNA 溶液请于-20℃保存。

常见问题及解决方案

常见问题	原因	解决方案
柱子堵塞	1. 样本投入量太多	请按照兼容范围投入样本。
	2. 样本裂解不充分	延长 56℃水浴时间，增加颠倒混匀次数。
DNA 产量低	1. 样本被反复冻融	避免反复冻融样本，推荐使用新鲜样本或只冻融过一次的样本。
	2. 动物组织裂解不充分	组织块尽量剪碎或液氮研磨，提取时使样本及时与 Buffer DA 及 Proteinase K 充分混匀，且可适当延长 56℃水浴裂解时间。
	3. 未完全将裂解混合物转移至吸附柱内	细胞裂解后加无水乙醇，溶液中会出现絮状沉淀，需要将其同溶液一起转移至吸附柱内。
	4. 洗脱液问题	请使用试剂盒自带的 Buffer EB2 洗脱，若用 ddH_2O 或其他洗脱液，确认洗脱液 pH 值在 7.0 - 8.0 之间。可提前将 Buffer EB2 预热至 55℃后再进行洗脱，有利于提高 DNA 得率。
	5. 洗脱效率低	洗脱液需滴加于膜中央位置；增加洗脱体积或洗脱次数。
	6. Buffer DW1/DW2Plus 未添加无水乙醇	按瓶身标签所示，加入指定体积的无水乙醇至 Buffer DW1 和 Buffer DW2Plus 中。
DNA 纯度低	1. 杂蛋白污染	未使用 Buffer DW1 漂洗，或 Buffer DW1 中未加入正确体积的无水乙醇。请按瓶身标签加入指定体积的无水乙醇后操作。
	2. 杂质离子污染	未使用 Buffer DW2 Plus 漂洗，或只漂洗一次。请按照说明书使用 Buffer DW2 Plus 漂洗两次。