

Version: AA5.0 (2025.08.08修订)

SPARKeasy Blood/Tissue/Cell DNA Kit  
全血/组织/细胞基因组DNA提取试剂盒  
(离心柱型)  
目录号: AA0901

01/产品组分

| 序号 | 组分         | 50 次<br>AA0901-A             | 200 次<br>AA0901-B |
|----|------------|------------------------------|-------------------|
| 1  | 平衡液        | 5 mL                         | 20 mL             |
| 2  | 裂解液 TL     | 11 mL                        | 40 mL             |
| 3  | 缓冲液 BB     | 10 mL                        | 40 mL             |
| 4  | 结合液 CB     | 15 mL                        | 60 mL             |
| 5  | 抑制物去除液 IR  | 25 mL                        | 100 mL            |
| 6  | 漂洗液 WB     | 15 mL                        | 25 mL×2           |
|    |            | 第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇<br>60 mL | 100 mL×2          |
| 7  | 洗脱缓冲液 EB   | 15 mL                        | 15 mL×2           |
| 8  | 吸附柱 AC     | 50 个                         | 200 个             |
| 9  | 收集管 (2 mL) | 50 个                         | 200 个             |

02/保存条件

所有组分均室温 (15-25℃) 保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取全血、各种动植物组织细胞基因组 DNA，可在 1 h 内完成单个或多个样本的提取工作。基于独特的结合液/蛋白酶 K 迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速漂洗、离心步骤，进一步将蛋白、多糖、多酚以及细胞代谢物等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。不同样品尤其疾病样品中白细胞数量差异非常大，因此产量的个体差异也可能非常大。

不同样本提取 DNA 的大致产量与纯度如下：

| 样本类型     | 样本量                   | DNA 平均产量      | 纯度<br>(OD260/OD280) |
|----------|-----------------------|---------------|---------------------|
| 哺乳动物全血   | 100-400 $\mu$ L       | 3-10 $\mu$ g  | 1.7-1.9             |
| 禽类、两栖类全血 | 5-20 $\mu$ L          | 5-40 $\mu$ g  | 1.7-1.9             |
| 培养细胞     | $10^6$ - $10^7$ cells | 5-30 $\mu$ g  | 1.7-1.9             |
| 动物组织     | 30 mg                 | 10-30 $\mu$ g | 1.7-1.9             |
| 小鼠尾      | 1.2 cm 尖部             | 10-25 $\mu$ g | 1.7-1.9             |
| 大鼠尾      | 0.6 cm 尖部             | 20-40 $\mu$ g | 1.7-1.9             |

## 04/自备材料

异丙醇、无水乙醇、抗凝剂（用于全血）、PBS（用于细胞）、胰蛋白酶（用于细胞）、RNase A、蛋白酶 K 溶液（20 mg/mL）

## 05/注意事项

### 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25°C）进行。
- ◇ 裂解液 TL、结合液 CB、或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37°C 水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 结合液 CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- ◇ 为了最佳效果，最好使用新鲜血液标本或者 4°C 存放少于 3 天的标本，不要使用反复冻融超过 3 次的标本，否则会严重降低产量。
- ◇ 关于平衡液的使用：取一个新的硅胶膜吸附柱装在收集管中，吸取 100  $\mu$ L 的平衡液至柱中。12,000 rpm (13,400 $\times$ g) 离心 1 min，弃废液，将吸附柱重新放回收集管。平衡液在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37°C 使沉淀完全消失。

## 06/使用方案

### 1. 样本处理：

#### ◆ 全血

- 取 200  $\mu$ L 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液，放入 1.5 mL 离心管。

▲ 如果全血起始量小于 200  $\mu$ L，则用缓冲液 BB 补足到 200  $\mu$ L。如果起始量介于 200  $\mu$ L-300  $\mu$ L 之间，则后续操作需要按照比例增加试剂用量。如果起始量介于 300  $\mu$ L-1 mL 之间，则需要先进行红细胞裂解操作。

▲如果处理血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量5-20  $\mu\text{L}$ ，可加缓冲液BB补足到200  $\mu\text{L}$ 后进行后续步骤。

- b. 加入20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K（20 mg/mL）溶液，充分混匀，再加入200  $\mu\text{L}$ 结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在70  $^{\circ}\text{C}$ 放置10 min。溶液应变清亮（但颜色偏黑色）。

▲可选步骤：如果RNA残留较多，需要去除RNA，可以在加入200  $\mu\text{L}$ 结合液CB前加20  $\mu\text{L}$  RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。

- c. 冷却后加入100  $\mu\text{L}$ 异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。

▲上述步骤中立刻涡旋或者吹打充分混匀非常重要，混匀不充分严重降低产量，必要时如样品粘稠不易混匀时可以涡旋振荡15 s混匀。

- d. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入用平衡液预处理过的吸附柱AC中，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心60 s，弃废液。

- e. 接操作步骤项下2。

#### ◆ 组织培养细胞

- a. 收集约 $10^5$ - $10^6$ 悬浮细胞到一个1.5 mL离心管；对于贴壁细胞，应该先用胰蛋白酶消化后吹打下来收集。

- b. 12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 10 s，使细胞沉淀下来。弃上清，留下细胞团和大约 10-20  $\mu\text{L}$  残留的液体。

- c. 加200  $\mu\text{L}$  1 $\times$ PBS重悬洗涤细胞，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心10 s，使细胞沉淀下来。完全吸弃上清，将细胞沉淀重悬于180  $\mu\text{L}$  1 $\times$ PBS中。

- d. 加入20  $\mu\text{L}$ 蛋白酶K（20 mg/mL）溶液，充分混匀，再加入200  $\mu\text{L}$ 结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在70  $^{\circ}\text{C}$ 放置10 min。

▲可选步骤：如果RNA残留较多，需要去除RNA，可以在加入200  $\mu\text{L}$  结合液CB前加20  $\mu\text{L}$  RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。

- e. 冷却后加100  $\mu\text{L}$ 异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。

- f. 将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入用平衡液预处理过的吸附柱AC中，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心60 s，弃废液。

- g. 接操作步骤项下2。

#### ◆ 动植物组织（例如鼠肝脑或者植物叶片）

- a. 将20-50 mg新鲜或者解冻的组织用解剖刀切成小碎块（切成小块可以提高产量）或者在液氮中研磨组织成细粉后，转入装有180  $\mu\text{L}$  组织裂解液TL的1.5 mL离心管中，用大口径枪头吹打混匀。

- b. 加入20  $\mu\text{L}$ 的蛋白酶K溶液（20 mg/mL），立刻涡旋振荡充分混匀。

- c. 将裂解物放置在55  $^{\circ}\text{C}$ 水浴1-3 h或者直到组织消化完全，期间轻柔的振荡几次帮助裂解。

▲可选步骤：如果RNA残留较多，需要去除RNA，可在完成步骤c后加20  $\mu\text{L}$  RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。

- d. 加入200  $\mu\text{L}$ 结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，70  $^{\circ}\text{C}$ 放置10 min。

- e. 冷却后加100  $\mu\text{L}$ 异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。

- f. 用1 mL的枪头吸取混合物，将混合物加入用平衡液预处理过的吸附柱AC中，

12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心60 s，弃废液。

▲如果有不溶组织物可能堵住枪头，可将枪头在吸水纸上轻蹭去除不溶物；如果吸上来的混合物少则可以将枪头和不溶物一起弃去，该做法是为了去除不溶物，以免堵塞离心柱。

- g. 接操作步骤项下2。

◆ 动物组织（鼠尾）

- a. 将0.2-0.5 cm的鼠尾巴尖（即20-50 mg）剪碎（一定要剪0-2 cm范围内的尾巴尖，否则裂解效果不好），或者在液氮中研磨组织成细粉后，转入装有180  $\mu$ L组织裂解液TL的1.5 mL离心管中，用大口径枪头吹打混匀。
- b. 加入20  $\mu$ L的蛋白酶K（20 mg/mL），立刻涡旋振荡充分混匀。
- c. 将裂解物放置在55°C水浴3 h或者直到组织消化完全，期间轻柔的振荡几次帮助裂解。  
▲ 可选做步骤：如果RNA残留较多，需要去除RNA，可在完成步骤c后加20  $\mu$ L RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。
- d. 用一个1 mL不带针头的输液器（或1 mL剪去枪尖的枪头）抽打裂解物2-3次。
- e. 加入200  $\mu$ L结合液CB和100  $\mu$ L异丙醇，立刻涡旋振荡充分混匀。
- f. 12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心5 min，将上清加入用平衡液预处理过的吸附柱AC中，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心30-60 s，弃废液。
- g. 接操作步骤项下2。

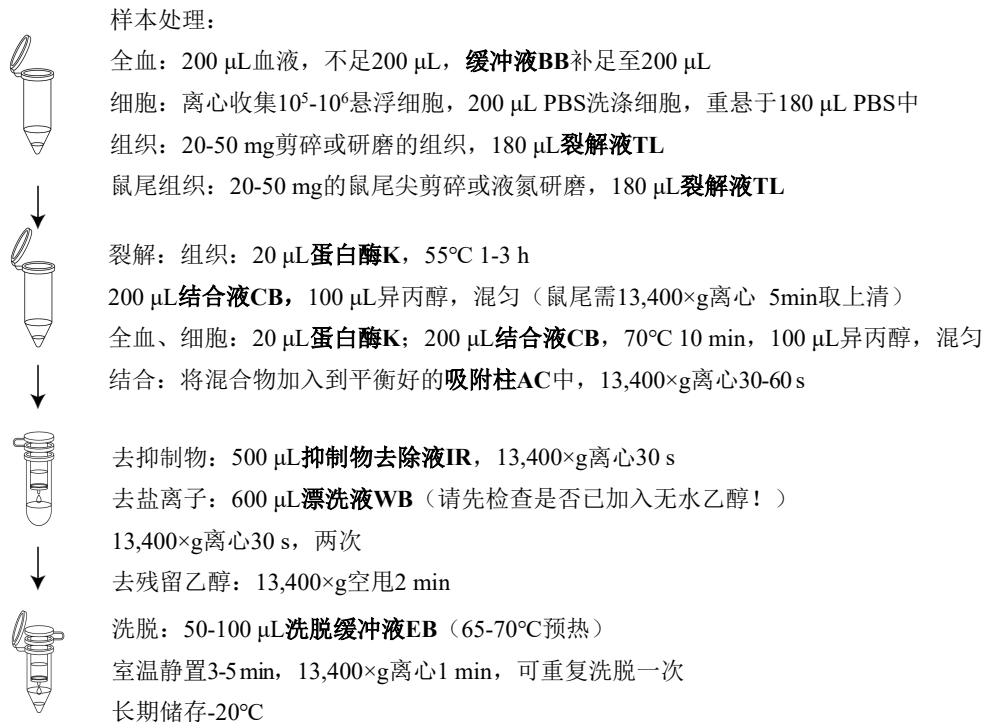
◇ 上述步骤中立刻涡旋或者吹打充分混匀非常重要，混匀不充分严重降低产量，必要时如样品粘稠不易混匀时可以涡旋振荡15 s混匀。

2. 加入 500  $\mu$ L 抑制物去除液 IR，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 30 s，弃废液。
3. 加入 600  $\mu$ L 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 30 s，弃废液，重复该步骤一遍。
4. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心2 min，尽量除去漂洗液。
5. 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加50-100  $\mu$ L洗脱缓冲液EB（洗脱缓冲液事先在65-70°C水浴中预热），室温放置3-5 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心1 min。

▲ 洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于50  $\mu$ L，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。

6. DNA可以存放在2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在-20°C。

## 07/流程简图



## 08/相关产品

AA1907 蛋白酶K (20 mg/mL)

AC0101 SparkZol Reagent

AC0202 SPARKeasy 组织/细胞RNA快速提取试剂盒 (含基因组DNA清除柱)

AC0902 SPARKeasy 新鲜/冻存全血总RNA 快速提取试剂盒

AF0802 2 $\times$ SparkHiFi Max Master Mix (with dye)

AF0803 2 $\times$ SparkHiFi Max Master Mix (without dye)

EA0001 红细胞裂解液 (即用型)

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

