

Version: AA 5.0 (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: AA0902

01/产品组分

序号	组分	50 次 AA0902-A	200 次 AA0902-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 60 mL	100 mL×2
7	洗脱缓冲液 EB	15 mL	15 mL×2
8	蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	1 mL	1 mL×4
9	吸附柱 AC	50 个	200 个
10	收集管 (2 mL)	50 个	200 个

02/保存条件

蛋白酶 K 溶液于-20℃保存；其它组分室温（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 (OD260/OD280)
哺乳动物全血	100-400 μ L	3-10 μ g	1.7-1.9
禽类、两栖类全血	5-20 μ L	5-40 μ g	1.7-1.9
培养细胞	10^6 - 10^7 cells	5-30 μ g	1.7-1.9
动物组织	30 mg	10-30 μ g	1.7-1.9
小鼠尾	1.2 cm 尖部	10-25 μ g	1.7-1.9
大鼠尾	0.6 cm 尖部	20-40 μ 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、

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℃）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℃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℃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 μ 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℃使沉淀完全消失。

06/使用方案

1. 样本处理：

◆全血

- 取200 μ 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 μ L，则用缓冲液BB补足到200 μ L。如果起始量介于200 μ L-300 μ 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 μ 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 μ L，可加缓冲液BB补足到200 μ L后进行后续步骤。

b. 加入20 μ L蛋白酶K（20 mg/mL）溶液，充分混匀，再加入200 μ L结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在70 $^{\circ}$ 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 μ L结合液CB前加20 μ 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 μ 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 μ L 残留的液体。

c. 加200 μ 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 μ L 1 $\times$ PBS中。

d. 加入20 μ L蛋白酶K（20 mg/mL）溶液，充分混匀，再加入200 μ L结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在70 $^{\circ}$ 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 μ L 结合液CB前加20 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 $^{\circ}$ 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 μ L RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置5-10 min。

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

e. 冷却后加100 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ L结合液CB和100 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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 μ 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



样本处理：

全血：200 μ L血液，不足200 μ L，**缓冲液BB**补足至200 μ L

细胞：离心收集 10^5 - 10^6 悬浮细胞，200 μ L PBS洗涤细胞，重悬于180 μ L PBS中

组织：20-50 mg剪碎或研磨的组织，180 μ L**裂解液TL**

鼠尾组织：20-50 mg的鼠尾尖剪碎或液氮研磨，180 μ L**裂解液TL**



裂解：组织：20 μ L**蛋白酶K**，55°C 1-3 h

200 μ L**结合液CB**，100 μ L异丙醇，混匀（鼠尾需13,400 $\times$ g离心 5min取上清）

全血、细胞：20 μ L**蛋白酶K**；200 μ L**结合液CB**，70°C 10 min，100 μ L异丙醇，混匀

结合：将混合物加入到平衡好的**吸附柱AC**中，13,400 $\times$ g离心30-60 s



去抑制物：500 μ L**抑制物去除液IR**，13,400 $\times$ g离心30 s

去盐离子：600 μ L**漂洗液WB**（请先检查是否已加入无水乙醇！）

13,400 $\times$ g离心30 s，两次

去残留乙醇：13,400 $\times$ g空甩2 min



洗脱：50-100 μ L**洗脱缓冲液EB**（65-70°C预热）

室温静置3-5 min，13,400 $\times$ g离心1 min，可重复洗脱一次

长期储存-20°C

08/相关产品

AA1906 蛋白酶K（10 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

