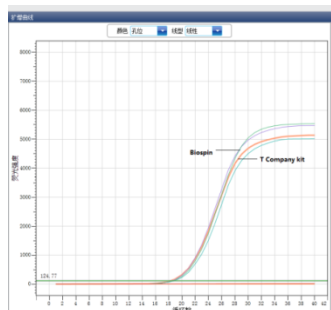


5. 将 Spin Column 转移至一个新的 1.5mL 离心管。
6. 向 Spin Column 中加入 30~100 $\mu$ L Elution Buffer, 并于室温温育 1 分钟。
7. 于 12,000 rpm 离心 1 分钟, 并弃去 Spin Column。
8. 1.5mL 离心管中液体含有 DNA。提取的 DNA 可直接用于各种下游应用实验, 如不立即使用, 请于-80 $^{\circ}$ C保存。

#### 核酸的检测分析

一、提取干血斑样本, 提取产物荧光定量 PCR 检测, 与同类进口 T 公司试剂进行比较



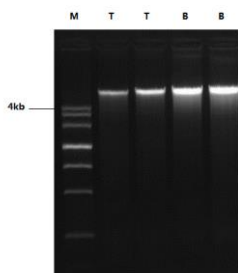
检测项目	染料	CT 值
Biospin	SYBR	18.43
Biospin	SYBR	18.44
T Company Kit	SYBR	18.61
T Company Kit	SYBR	18.64
阴性	SYBR	

## Biospin Omni Genomic DNA Extraction Kit

### Biospin 全能型基因组 DNA 提取试剂盒

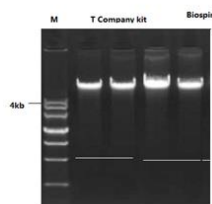
二、提取 25mg/管小鼠肾脏样本, 琼脂糖凝胶电泳以及 NanoDrop 检测纯度和浓度的结果。

(T: T Company Kit, B: Biospin)



试剂	ng/ $\mu$ l	OD260/OD280	OD260/OD230	均值
T Company Kit	47.3	1.90	1.99	54.65
T Company Kit	62.0	1.92	2.34	
Biospin	112.6	1.86	1.85	114.10
Biospin	115.6	1.87	2.25	

三、提取大肠杆菌基因组 DNA, 琼脂糖凝胶电泳以及 NanoDrop 检测纯度和浓度的结果。



试剂	ng/ $\mu$ l	OD260/OD280	OD260/OD230	均值
T Company kit	54.9	1.76	1.41	64.65
T Company kit	74.4	1.78	1.49	
Biospin	78.6	1.86	1.76	77.8
Biospin	77.0	1.82	1.50	

#### TECHNICAL SUPPORT:

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5278 or 5211,  
or fax to 0086-571-87774303  
Email to [reagent@bioer.com.cn](mailto:reagent@bioer.com.cn).

Website: [www.bioer.com.cn](http://www.bioer.com.cn)

## Kit Components

Cat#	BSC39S1	BSC39M1
<b>Components</b>	<b>50 Tests</b>	<b>100 Tests</b>
TES buffer	14mL	28mL
TET buffer	9mL	18mL
LysisB buffer	25mL	50mL
PK solution	1mL	1mL×2
RNase A	200μL	400μL
PW Buffer	12mL (add 18mL absolute ethanol)	24mL (add 36mL absolute ethanol)
Wash Buffer	24mL (add 36mL absolute ethanol)	48mL (add 72mL absolute ethanol)
Elution Buffer	5mL	10mL
Spin Columns	50	100
Handbook	1	1

## Storage & shipping conditions

1. Store Protease K and RNase A at 2~8°C, store all other components at room temperature.
2. All components are stable for 18 months from date of receipt under proper storage condition.

## Introduction

The kit provides a simple, fast and cost effective method that can isolate high quality DNA. Using one simple protocol, high yield purified DNA can be isolated from various samples including **animal tissue**, whole blood, buffy coat, leukocytes, **bacteria**, yeast, blood spots, swabs and cultured cells. The kit utilizes silica-based membrane techniques within a convenient spin column, no need of expensive resins, toxic phenol-chloroform extractions, or time-consuming alcohol precipitation. The whole procedure takes less than 20 minutes including lysis steps, and more than 20 kb DNA could be purified by this kit. Isolated DNA can be directly applied to PCR, Southern blotting and other enzymatic reactions.

## Typical genomic DNA yields from various samples

Source	Quantity	Yield (μg)
Mammalian tissue	25mg	5-30
Mammalian blood	200μL	2-10
Bacterium	≤ 10 <sup>9</sup>	≤ 50
Cell	≤ 2×10 <sup>6</sup>	5-30
Blood spots	2-5 pieces	0.1-1

## Additional apparatus and materials required but not supplied

- |                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| * Sterile 1.5mL microcentrifuge tubes | * 10μL/200μL/1000μL tips   |
| * Centrifuge capable of 12,000g       | * Absolute ethanol   |
| * Vortex mixer                        | * Warm bath  |
| * PBS buffer                          | * Lysozyme   |
| * Lyticase                            | * Sorbitol buffer (18.217g sorbitol + 3.7224g EDTA-2Na, dissolve into 100 mL ddH <sub>2</sub> O) |

### ➤ 针对细菌样本裂解

#### A. 革兰氏阴性细菌

1. 收集细菌，取适量过夜培养细菌(最多 2×10<sup>9</sup> 个细菌)，12,000rpm 离心 1 分钟，弃上清。尽可能吸净上清。
2. 加入 180μL 的 TES buffer 和 20 μL PK solution，涡旋振荡 20sec 混匀。
3. 56°C温育 30 分钟-4 小时。**注：期间每隔一段时间涡旋振荡 10 秒，有助于消化地更充分。**
4. 加入 4μL RNase A，混匀后室温孵育 2 分钟。
5. 加入 200μL Lysis B buffer，混合均匀。
6. 加入 200μL 无水乙醇，混合均匀。

#### B. 革兰氏阳性细菌

1. 将溶菌酶溶于 TET buffer，至终浓度 20mg/mL，左右摇晃 10-15 次，大约 30 秒，直至溶液清亮，2~8°C保存。
2. 收集细菌，取适量过夜培养细菌(最多 2×10<sup>9</sup> 个细菌)，12,000rpm 离心 1 分钟，弃上清。尽可能吸净上清。
3. 加入 180μL 的 TET buffer，涡旋振荡 20sec 混匀。
4. 37°C温育 30 分钟。
5. 加入 20μL PK solution，振荡混匀。
6. 加入 200μL Lysis B buffer，混合均匀后，56°C温育 30 分钟。
7. 加入 200μL 无水乙醇，混合均匀。

### ➤ 酵母菌样本裂解

1. 对于液体酵母培养物，取适量培养物，9,000 x g 离心 1 分钟，并弃去上清液。向菌体中加入 500μL Sorbitol buffer，并加入 100~200U 的 Lyticase（客户自备），充分混匀，于 37°C温育 30 分钟。然后于 6,000 x g 离心 1 分钟，并弃去上清液，收集沉淀。
2. 加入 180μL 的 TES buffer 和 20μL PK solution，涡旋振荡 20sec 混匀。
3. 56°C温育 30 分钟。
4. 加入 4μL RNase A，混匀后室温孵育 2 分钟。
5. 加入 200μL Lysis B buffer，混合均匀。
6. 加入 200μL 无水乙醇，混合均匀。

### ➤ 口腔拭子样本裂解

1. 取样方式：使用棉签在面颊内擦拭 10-15 次。  
**注意：为了保证样本不被食物或者饮料污染，取样前 30 min 内请勿进食和饮水。**
2. 将在面颊内擦拭过的棉签转置于 2 mL 离心管中，用剪刀将棉签部分从其杆上剪下。
3. 加入 500μL Lysis B buffer 和 20 μL PK Solution，涡流剧烈振荡混匀 15 秒。
4. 56°C温育 15 分钟。
5. 取 350μL 裂解后的溶液到一个新的 1.5mL 离心管中。
6. 在上述离心管中加入 350μL 无水乙醇，充分振荡混匀 10 秒。

## 二、样本提取操作

1. 取上述混合液(≤750μL)转移至 Spin Column，于 12,000 rpm 离心 1 分钟，并弃去接液管中液体。
2. 向 Spin column 中加入 500μL PW Buffer，于 12,000 rpm 离心 1 分钟，并弃去接液管中液体。
3. 向 Spin column 中加入 500μL 的 Wash Buffer，于 12,000 rpm 离心 1 分钟，并弃去接液管中液体。
4. 向 Spin column 中加入 500μL 的 Wash Buffer，于 12,000 rpm 离心 1 分钟，并弃去接液管。

## 需要的配套设备和材料

- \* 无菌1.5mL和2.0mL离心管
- \* 离心机（最大转速>12,000rpm）
- \* 漩涡振荡器
- \* PBS 缓冲液
- \* 溶壁酶（Lyticase）

- \* 10μL/200μL/1000μL 移液器吸头
- \* 无水乙醇
- \* 水浴/金属浴装置
- \* 溶菌酶（Lysozyme）
- \* Sorbitol buffer: 准确称取18.217g山梨醇和3.7224g EDTA二钠盐, 溶解于100mL灭菌纯水中

## 重要提示

- PW Buffer 和 Wash Buffer在使用前请按瓶身标签标明的体积加入无水乙醇, 并将其混匀。
- 提取革兰氏阳性细菌DNA, 需要将溶菌酶溶解于TET buffer中, 终浓度至20mg/mL。
- 提取酵母菌DNA, 需要将溶壁酶溶解于Sorbitol buffer中, 终浓度至100-200 U/个样品。

## 操作步骤

### 一、样本裂解

#### ➤ 针对哺乳动物细胞和血液样本裂解

##### 1. 前处理

- A. **细胞:** (贴壁细胞用胰酶消化) 1,500rpm 离心 5min, 弃上清, 加入 200μL PBS 重悬细胞。
  - B. **血液白细胞:** 如果提取的血液量大于 200μL, 使用红细胞裂解液 (Cat#BSA06M1) 处理全血获得白细胞, 加入 200μL PBS 重悬白细胞。
  - C. **全血:** 直接取 200μL (不足 200μL 请用 PBS 补足到 200μL), 加入到无菌 1.5mL 离心管。
2. 加入 20μL PK solution 并混合均匀后, 加入 4μL RNase A, 混匀后室温孵育 2 分钟。
  3. 加入 200μL Lysis B buffer, 混匀后 56°C 温育 10 分钟。
  4. 加入 200μL 无水乙醇, 混合均匀。

#### ➤ 针对哺乳动物组织样本裂解

1. 取 180μL TES buffer 和 20μL PK solution 加入到无菌 1.5mL 离心管中。
  2. 取不多于25mg切碎或液氮研磨粉碎的动物组织, 放入上述离心管中, 混匀。  
**注: 脾脏组织不多于10mg, 溶液必须能够将组织完全浸没。**
  3. 56°C 温育 1-4 小时。对于难裂解的样本可适当延长消化时间, 甚至过夜。  
**注: 期间每隔一段时间涡旋振荡 10 秒, 有助于消化的更充分。**
  4. 12,000rpm 离心 3 分钟, 将上清液转移至一个新的 1.5mL 离心管中。
  5. 加入 4μL RNase A, 混匀后室温孵育 2 分钟。
  6. 加入 200μL Lysis B buffer, 混合均匀。
  7. 加入 200μL 无水乙醇, 混合均匀。
- #### ➤ 针对干血斑样本裂解
1. 取 2-5 片 3×3 mm 的干血斑样品到 1.5 mL 的离心管 (自备) 中。
  2. 加入 280μL 的 TES buffer 和 20μL PK solution, 涡旋震荡 10sec 混匀后, 放入预热至 56°C 的恒温震荡器中, 900 rpm 恒温震荡 60min。
  3. 12,000rpm 离心 3 分钟, 将上清液转移至一个新的 1.5mL 离心管中。
  4. 加入 4μL RNase A, 混匀后室温孵育 2 分钟。
  6. 加入 300μL Lysis B buffer, 混合均匀。
  7. 加入 150μL 无水乙醇, 混合均匀。

## Important Notes

Please add absolute ethanol to **PW Buffer** and **Wash Buffer**, mix thoroughly before use.

## Protocol

### ➤ Sample lysis

#### ■ Cell and blood

##### 1. Sample pre-processing

A. **Culture cells:** adherent cells shall be digested with trypsin, no more than  $10^7$  cells. Spin for 5min in 1500rpm, discard the supernate. Add 200μL PBS buffer into the tube, re-suspend cells.

B. **Leukocytes:** if blood volume is more than 200μL, use Red Blood Cell Lysis Buffer (Cat. # BSA06M1 or Cat. # BSA07M1) first to obtain white blood cells, add 200μL PBS buffer into the tube, re-suspend cells.

C. **Whole blood:** Add 200μl well mixed blood into tube (if the blood is less than 200μL, add to 200μL with PBS buffer).

2. Add 20μL PK solution, mix thoroughly for 15s. Add 4μL RNase A. Incubate at room temperature for 2min.
3. Add 200μL Lysis B buffer, mix thoroughly. Incubate at 56°C for 10min.
4. Add 200μL absolute ethanol, mix thoroughly.

#### ■ Animal tissue

1. Add 180μL TES Buffer and 20μL PK solution into tube.

2. Grind tissue to powder (no more than 25mg) with liquid nitrogen. Add it to the tube and mix thoroughly.

**Note:** for spleen, no more than 10mg, samples must be submerged within solution.

3. Incubate for 1-4 hours at 56°C. For samples hard to lysis, prolong lysis time or even overnight.

**Note:** vortex per 10s will facilitate lysis.

4. Centrifuge 3min at 12,000g. Carefully transfer the supernatant into a new tube.
5. Add 4μL RNase A, incubate at room temperature for 2min.
6. Add 200μL Lysis B buffer, mix thoroughly.
7. Add 200μL absolute ethanol, mix thoroughly.

#### ■ Blood spots

1. Take 2-5 pieces spots (3×3mm) into a tube.
2. Add 280μL TES Buffer and 20μL of PK solution into the tube. Mix intensively for 10s. Put it in 56°C thermostat oscillator metal bath, vortex for 60min at 900rpm.
3. Centrifuge for 3min at 12,000g. Carefully transfer the supernatant into a new tube.
4. Add 4μL RNase A, incubate at room temperature for 2min.
5. Add 300μL Lysis B buffer, mix thoroughly.
6. Add 150μL absolute ethanol, mix thoroughly.

#### ■ Gram negative bacteria lysis

1. Harvest bacterium (maximum  $2 \times 10^9$  cells) in a microcentrifuge tube by centrifuging for 1 min at maximum speed. Discard supernatant as far as possible.
2. Resuspend pellet in 180 μL TES Buffer and 20μL PK solution. Mix by pulse-vortexing intensively for 20seconds.
3. Incubate at 56°C for 30 minutes-4hours.
4. Optional: add 4μL RNase A (20mg/ml) and mix thoroughly.

5. Add 200μL LysisB buffer, and mix thoroughly.
6. Add 200μL absolute ethanol, mix thoroughly.
- **Gram positive bacteria lysis**
1. Please add Lysozyme to TET Buffer to a final concentration of 20mg / mL, mix thoroughly for 30seconds or so until the solution is clear, stored at 2-8°C.
2. Harvest bacterium (maximum 2 x 10<sup>9</sup> cells) in a microcentrifuge tube by centrifuging for 1 min at maximum speed. Discard supernatant as far as possible.
3. Resuspend pellet in 180 μL TES Buffer. Mix by pulse-vortexing intensively for 20seconds.
4. Incubate at 37°C for 30 minutes.
5. Add 20μL PK solution and mix thoroughly.
6. Add 200μL LysisB buffer, and mix thoroughly. Incubate at 55°C for 30 minutes
7. Add 200μL absolute ethanol, mix thoroughly.
- **Yeast culture lysis**
1. Resuspend the yeast cells pellet in 500 μL sorbitol buffer. Add 100~200 units lyticase and incubate at 37 °C for 30minutes. Centrifuge for 1 min at 6,000 x g. Discard supernatant.
2. Add 180μL TES Buffer and 20μL PK solution, vortex the tube for 20sec.
3. Incubate at 56°C for 30 minutes.
4. Optional: add 4μL RNase A (20mg/ml) and mix thoroughly. Incubate at room temperature for 2 minutes.
5. Add 200μL LysisB buffer, and mix thoroughly.
6. Add 200μL absolute ethanol, mix thoroughly.
- **Swab**
1. Sample preparation: Use cotton swabs in cheek wipes 10-15 times.
2. Turn the swab to a 2 mL centrifuge tube, Cut out stem part from the swab with scissors.
3. Add 500μL LysisB Buffer and 20μL PK Solution to the 2.0mL microcentrifuge tube. Mix thoroughly for 10 seconds.
4. Incubate at 56°C for 15 minutes.
5. Take 350μL the lysis product to the 1.5mL microcentrifuge tube.
6. Add 350μL of ethanol and mix thoroughly for 10 seconds.

### ➤ DNA Purification

1. Transfer all the mixture(≤750μL) to spin column. Centrifuge the mixture at 12,000×g for 1 minute. Discard flow-through.
2. Add 500μL PW buffer to the Spin column. Centrifuge the spin column at 12,000×g for 1 minute. Discard flow-through.
3. Add 500μL Wash buffer to the spin column. Centrifuge at 12,000 ×g for 1 minute. Discard flow-through. Take the spin column back to the tube.
4. Repeat step 3
5. Centrifuge the spin column at 12,000 ×g for 2 minute.
6. Place the spin column in a new 1.5 or 2.0mL micro centrifuge tube. Add 30-100μL of the Elution Buffer. Incubate at room temperature for 2 minutes. Centrifuge the mixture at 10,000×g for 1 minute. The DNA in the collection tube is ready for further analysis. If the isolated DNA sample is not going to be tested on the same day, freeze it at -20°C.

## 试剂盒组成

货号	BSC39S1	BSC39M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
TES buffer	14mL	28mL
TET buffer	9mL	18mL
LysisB buffer	25mL	50mL
PK solution	1mL	1mL×2
RNase A	200μL	400μL
PW Buffer	12mL ( 使用前加 18mL 无水乙醇)	24mL ( 使用前加 36mL 无水乙醇)
Wash Buffer	24mL ( 使用前加 36mL 无水乙醇)	48mL ( 使用前加 72mL 无水乙醇)
Elution Buffer	5mL	10mL
Spin Columns	50	100
说明书	1 份	1 份

## 储存与运输

- ◆ 该提取试剂盒除 PK solution 和 RNase A 保存在 2-8°C, 其余试剂常温保存, 有效期为 18 个月。
- ◆ 可在常温下运输。

## 介绍

本试剂盒采用一套独特的基因组 DNA 缓冲系统, 配合特异性结合 DNA 的离心吸附柱, 可用于血液、细菌 (包括革兰氏阴性和革兰氏阳性细菌)、细胞、动物组织、干血斑、酵母、口腔拭子等样本 DNA 的提取。

提取纯化的 DNA 长度为 20-50Kb, 可以直接用于 PCR/Real-time PCR, sequencing, southern blotting, mutant analysis, SNP 等下游实验。

## 基本技术参数

样本	提取量	DNA 得率 (ug)
哺乳动物全血	200μL	2-10
细菌	≤ 10 <sup>9</sup> 个	≤ 50
细胞	≤ 2×10 <sup>6</sup> 个	5-30
干血斑	2-5 片	0.1-1
动物组织	25mg	5-30