

BT Fast Total DNA Extraction Kit
通用型DNA提取试剂盒

使用说明书
Version 2.1

FOR RESEARCH USE ONLY

货号：S(100T) L(1000T)

产品说明：

本产品利用磁珠在特定缓冲液条件下可与核酸结合原理，在磁场作用下富集核酸；相较于柱子收集核酸，本产品提取核酸速度更快，最快可在35min内完成DNA的高质量提取；本产品所提取核酸的A260/A280 比值在1.85-2.10之间，提取后的DNA可用于转基因鉴定或基因片段扩增；本产品可用于多糖多酚样品DNA提取，且提取过程中无需氯仿，提取液中不含苯酚、β巯基乙醇；本产品操作更简便，操作过程中仅需离心一次。

产品组成：请使用前在对应组分的瓶盖及标签上用马克笔标注序号(①②③...)，方便后续使用。

产品组分	S(100T)	L(1000T)
①BT DNA Extraction Lysis Buffer	50ml [#]	500ml [#]
②BT For DNA	50mg*	500mg*
③DNA WB1	20mL**	200mL**

特别注意：

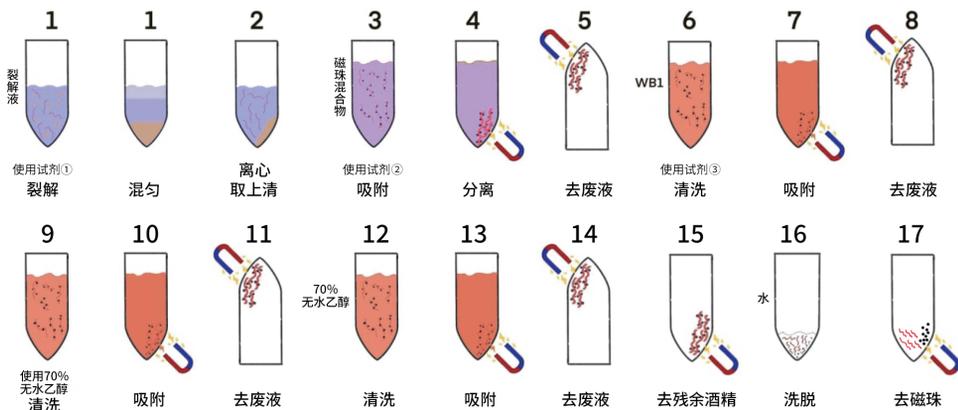
[#]BT DNA Extraction Lysis Buffer在温度较低的情况下会有盐离子析出，若溶液变浑浊，需预先在60°C水浴锅中加热融化；

S(100T)：*使用前需加入50mL无水乙醇；**使用前需加入35mL无水乙醇；

L(1000T)：*使用前需加入500mL无水乙醇；**使用前需加入350mL无水乙醇；

注意事项：

本实验中倒去上清时注意将离心管放置在磁力架或替代磁场中，以免磁珠损失；纯水、无水乙醇及75%乙醇需自备。



使用说明:

1、取100mg液氮研磨样品于离心管中,加入500 μ L①BT DNA Extraction Lysis Buffer,迅速颠倒混匀后室温静置10min;

注:

植物、组织、真菌使用液氮充分研磨或组织匀浆;

贴壁细胞或悬浮细胞除去培养基后,再加入500 μ L①BT DNA Extraction Lysis Buffer,反复吹打。尽量采集足够的细胞,如果细胞数量极少(小于 10^5)不建议使用本产品。如12孔板,请收集至少4孔细胞;6孔板请收集至少2孔细胞(具体情况与细胞浓度有关);

细菌离心收集菌体,去上清,再加入500 μ L①BT DNA Extraction Lysis Buffer充分混匀,65°C处理10min辅助破胞(细菌类样本必须65°C处理,否则将严重影响DNA的得率。65°C处理后无需再室温静置10min),多数细菌样本不需要研磨,65°C处理10min即可破胞,少数细菌需溶菌酶或者研磨辅助破胞;

液体类样本,如血液、血清取200-300 μ L,再加入1mL①BT DNA Extraction Lysis Buffer充分混匀。

2、室温13,000 rpm离心5min(如果样品中富含色素,会在上清中形成一团不能沉淀的絮状物质,色素在后期清洗中会除去,并不影响后续实验);

3、将上清转移到新的2 mL离心管中,注意不要吸到沉淀,加入等体积②BT For DNA(使用前用力摇晃,使磁珠均匀分散)(确认使用前已加入无水乙醇),剧烈震荡数10次或者涡旋10s(剧烈分散纳米磁珠,否则将影响纯度),室温静置30s;

4、将装有混合物的离心管置于磁力架或其他形式的磁场中,静置10s,直至磁珠被完全富集(静置时间与磁场强度相关,可以根据观察溶液澄清程度确定静置时间,如使用12孔磁力架,建议使用2mL RNase-Free离心管,与磁力架更加贴合);

注:离心管盖上有时会残留磁珠,可通过颠倒磁力架,使磁珠富集到一起。

5、在磁场中倒去上清;

6、加入500 μ L③DNA WB1(确认使用前已加入无水乙醇),脱离磁场,剧烈震荡数10次或者涡旋10s(剧烈分散纳米磁珠,否则将影响纯度);

7、将离心管再次放入磁力架或其他形式的磁场中,静置10s(静置时间与所处磁场强度相关);

8、在磁场中倒去上清;

9、加入500 μ L 75%乙醇(需自备),脱离磁场,剧烈震荡数10次或者涡旋10s(剧烈分散纳米磁珠,否则将影响纯度);

10、将离心管再次放入磁力架或其他形式的磁场中,静置10s(静置时间与所处磁场强度相关);

11、在磁场中倒去上清;

12、再次加入500 μ L 75%乙醇,脱离磁场,剧烈震荡数10次或者涡旋10s(剧烈分散纳米磁珠,否则将影响纯度);

13、将离心管再次放入磁力架或其他形式的磁场中静置10s(静置时间与所处磁场强度相关);

14、在磁场中倒去上清;

15、清除残留乙醇*;

*清除残留乙醇方案:

a)用枪头吸掉底部和盖子上残留的液体,并打开盖让乙醇挥发10-15min,等待期间会有液体再次聚集在管底,需要再次吸弃;

b)瞬时离心后将离心管放回磁力架中,吸弃管底残余液体,挥发酒精的时间与环境风速、温度、残余酒精量等参数相关,需要根据实际情况进行细微调节;

*清除残留乙醇的程度至关重要:乙醇清除程度不够,会影响最终DNA浓度(浓度过低)。乙醇清除程度过大(时间过久),会导致DNA被磁珠牢牢吸附,DEPC-Treated ddH₂O无法从磁珠上洗脱DNA;
判断清除残留乙醇到合理程度有3种方法:

- a)把离心管放入磁力架中,乙醇清除时间在10-15分钟;
- b)把离心管放入磁力架中,通过观察磁珠表面的反光程度,当发现反光程度降低到原有的一半左右,即可;
- c)把离心管放入磁力架中,通过观察磁珠表面的龟裂情况,当发现磁珠表面刚出现龟裂时,即可。

16. 加入50-100μl水,涡旋混匀或者用指头弹拨管底使得磁珠完全重悬;

17. 将离心管再次置于磁力架上,澄清的溶液即为DNA溶液(可带磁珠保存)。

注:如果磁珠未充分分散,磁珠之间包含有杂质,在最后一步加入DEPC水后,磁珠会严重挂壁且明显结块(轻微挂壁、黏附在管壁是正常现象,可放入磁力架中取出DNA溶液,也可以带磁珠保存)。

本试剂可适配全自动核酸提取仪,
详细操作见, AD0097通用版DNA自动化提取说明书。