

## 微量样本基因组DNA快速提取试剂盒

货号：DD103-01

保存：15-25 °C

### 【产品概述】

本试剂盒采用特制的微量DNA吸附柱和独特的缓冲液体系，适合于从微量血液、组织细胞、微小昆虫、法医材料、毛发、微切割材料、干血点、药签、口香糖、尿液等微量样品中分离纯化基因组DNA。各种来源样品裂解消化处理后DNA在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜（特别配备了Poly Carrier可以从体系中轻松捕获微量核酸），再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，将盐、细胞代谢物、蛋白等杂质去除，在低盐洗脱缓冲液作用下得到纯净的基因组DNA。纯化后的DNA可直接适用于PCR分析。

### 【产品组分】

货号	组分	DD103-01 (50T)
DD103-101	裂解液ML	11 ml
DD103-102	结合液CB	15 ml
DD103-103	去蛋白液PE	16 ml
DD103-104	漂洗液WB（首次使用前按说明加指定量无水乙醇）	13 ml
DD103-105	Poly Carrier	200 $\mu$ l
DD103-106	洗脱缓冲液EB	10 ml
DD103-107	蛋白酶K溶液	1 ml
DD103-108	超微量DNA离心柱	50套

### 【保存条件】

室温（15-25°C）保存，保质期一年。

### 【注意事项】

- 去蛋白液PE、结合液CB低温时可能出现析出和沉淀，在37°C水浴几分钟溶解，澄清透明后冷却到室温即可使用。
- 蛋白酶K保存在即用型甘油缓冲液中，常温运输，收到后，不超过25°C室温至少保存6个月，4°C保存12个月，-20°C保存2年。
- 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盖子。仔细阅读注意事项4。
- 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机。
- 开始实验前将需要的水浴先预热到所需温度备用。部分样品需要准备1M DTT。
- 结合液CB 和去蛋白液PE中含有刺激性化合物，操作时戴乳胶手套，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。
- Poly Carrier使用方法：如果起始处理量很少（例如小于10  $\mu$ l全血和法医样品），推荐使用Poly Carrier，如果预期有较大DNA产量，Poly Carrier可以根据需要选择是否加入。使用时在每个样品提取所需结合液CB 中加入2-4  $\mu$ l Poly Carrier储存溶液，将结合液CB与Poly Carrier溶液充分颠倒混匀即可（结合液CB容易起泡沫，请勿使用涡旋振荡混匀）。也可根据样品数量，在总共需要的结合液CB中加入总共需要的Poly Carrier混匀备用。混合液在室温24小时内稳定。

## 【产品特点】

1. 特殊超微量5  $\mu\text{g}$ 离心柱设计，可以最低6  $\mu\text{l}$ 洗脱，大大提高了DNA的浓度。
2. 不需要使用苯酚，也不需要乙醇沉淀。
3. 快速、简便，单个样品操作一般可在20分钟内完成。
4. 配备了Poly Carrier用于充分收集特别微量DNA。
5. 多次柱漂洗确保高纯度，提取的DNA 纯度高，质量稳定可靠，可适用于各种常规操作，包括PCR、酶切、测序、Southern 杂交等。

## 【操作步骤】

⇒ 第一次使用前请先按漂洗液RW瓶和去蛋白液PE瓶标签加入无水乙醇！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！

### 1. 血液样品

- a. 取1-50  $\mu\text{l}$ 血液到1.5 ml 的离心管中。
- b. 加入裂解液ML补足到100  $\mu\text{l}$ 。
- c. 加入10  $\mu\text{l}$ 的蛋白酶K (20 mg/ml)溶液，充分混匀，再加入100  $\mu\text{l}$ 结合液CB，**立刻涡旋振荡充分混匀**，在70°C放置10分钟。  
▲如果处理样品< 10  $\mu\text{l}$ ，建议在100  $\mu\text{l}$ 结合液CB 中加入1  $\mu\text{l}$  Poly Carrier储存溶液。
- d. 冷却后加入50  $\mu\text{l}$ 无水乙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，室温放置3分钟。  
▲如果周围环境高于25°C，乙醇需要冰上预冷后再加入。
- e. 接操作步骤项下7。

### 2. 干血点

- a. 用打孔机打孔的方法在血卡(上面有干血点) 上冲取3 mm(1/8英寸) 直径血卡小片(上面有干血点)，最多将3个直径3 mm血卡小片放入1.5ml 的离心管中。  
▲一般血液应该点在特定纸或者血卡上面干燥，如903 paper or IsoCode paper (Schleicher & Schuell), BloodstainCard or FTA Gard (Whatman), Guthrie test cards, or comparable blood cards.
- b. 加入180  $\mu\text{l}$ 裂解液ML。
- c. 加入20  $\mu\text{l}$ 的蛋白酶K (20 mg/ml)溶液，立刻涡旋振荡充分混匀。
- d. 56°C轨道摇床上面900 rpm振荡1小时。  
▲如果没有可加热轨道摇床，可以在水浴或者heating block上面进行，每10分钟涡旋振荡10秒帮助裂解。
- e. 加入200  $\mu\text{l}$ 结合液CB，立刻涡旋振荡充分混匀。  
▲如果只处理一个3 mm血卡小片，建议在200  $\mu\text{l}$ 结合液CB 中加入2  $\mu\text{l}$  Poly Carrier储存溶液。
- f. 70°C轨道摇床上面900 rpm振荡10分钟。  
▲如果没有可加热轨道摇床，可以在水浴或者heating block上面进行，每3分钟涡旋振荡10秒帮助裂解。
- g. 接操作步骤项下7。

### 3. 组织样品

- a. 新鲜或解冻的组织在液氮中研磨成细粉后或者用解剖刀切成小碎块（切成微块可以提高产量）后取<10 mg，转入装有180  $\mu\text{l}$ 裂解液ML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56°C水浴0.5-2小时或者直到组织消化完全，期间轻柔的振荡几次帮助裂解。

d. 加入200  $\mu$ l 结合液CB, 立刻涡旋振荡充分混匀。

▲如果处理样品量少, 建议在200  $\mu$ l结合液CB 中加入2  $\mu$ l Poly Carrier储存溶液。

e. 冷却后加200  $\mu$ l 无水乙醇, 立刻涡旋振荡充分混匀, 室温放置5分钟。

▲如果周围环境高于25°C, 乙醇需要冰上预冷后再加入。

f. 接操作步骤项下7。

#### 4. 口香糖

a. 将30mg口香糖切成小块放入1.5ml离心管, 加入280  $\mu$ l裂解液ML和20  $\mu$ l的蛋白酶K溶液(20 mg/ml), 立刻涡旋振荡充分混匀。

b. 56°C轨道摇床上面900 rpm振荡至少3小时。

▲如果没有可加热轨道摇床, 可以在水浴或者heating block上面进行, 每10分钟涡旋振荡10秒帮助裂解。

加入300  $\mu$ l 结合液CB (加入2  $\mu$ l Poly Carrier), 立刻涡旋振荡充分混匀。

c. 70°C轨道摇床上面900 rpm振荡1小时。

▲如果没有可加热轨道摇床, 可以在水浴或者heating block上面进行, 每10分钟涡旋振荡10秒帮助裂解。

d. 冷却后加150  $\mu$ l无水乙醇, 立刻涡旋振荡充分混匀。

e. 最高速(约13,000 rpm)离心1分钟, 取上清加入一个吸附柱中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm离心30-60秒, 倒掉收集管中的废液。

f. 接操作步骤项下8。

#### 5. 法医材料

a1. 剪下1 cm<sup>2</sup>烟头或者过滤嘴外层纸, 切成6小块放入1.5 ml离心管, 加入300  $\mu$ l裂解液ML和20  $\mu$ l的蛋白酶K溶液(20 mg/ml), 立刻涡旋振荡充分混匀。**接步骤b。**

a2. 剪下0.5-2.5 cm<sup>2</sup>信封或者邮票, 切成小块放入1.5 ml离心管, 加入300  $\mu$ l裂解液ML和20  $\mu$ l的蛋白酶K溶液(20 mg/ml), 立刻涡旋振荡充分混匀。**接步骤b。**

a3. 从毛发根部毛囊处开始剪下0.5-1 cm长度毛发放入1.5 ml离心管, 加入280  $\mu$ l裂解液ML和20  $\mu$ l的蛋白酶K溶液(20 mg/ml)和20  $\mu$ l 1M DTT溶液, 立刻涡旋振荡充分混匀。**接步骤b。**

a4. 将指甲剪成小块放入1.5 ml离心管, 加入280  $\mu$ l裂解液ML和20  $\mu$ l的蛋白酶K溶液(20 mg/ml)和20  $\mu$ l 1M DTT溶液, 立刻涡旋振荡充分混匀。**接步骤b。**

a5. 将约0.5 cm<sup>2</sup>信封沾染了血液、唾液、精液的材料剪成小块放入1.5 ml离心管, 加入300  $\mu$ l裂解液ML和20  $\mu$ l的蛋白酶K溶液(20 mg/ml) (如果是精液需另加入20  $\mu$ l 1M DTT溶液), 立刻涡旋振荡充分混匀。**接步骤b。**

b. 56°C轨道摇床上面900 rpm振荡1小时。

▲如果没有可加热轨道摇床, 可以在水浴或者heating block上面进行, 每10分钟涡旋振荡10秒帮助裂解。

▲一般毛发1小时裂解可以完成, 如果不完全可以延长时间。指甲等难裂解物建议过夜裂解。最后没有裂解的不溶物在后续步骤e中会通过离心去除。

c. 加入300  $\mu$ l结合液CB (加入2  $\mu$ l Poly Carrier), 立刻涡旋振荡充分混匀。

d. 70°C轨道摇床上面900 rpm振荡1小时。

e. 最高速(约13,000rpm)离心1分钟, 取上清加入一个吸附柱中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm离心30-60秒, 倒掉收集管中的废液。

f. 接操作步骤项下8。

## 6. 微切割样品（包括福尔马林固定的微切割样品）

- a. 加入15  $\mu$ l 裂解液ML 到0.2 ml 离心管中，放入微切割样品。
  - b. 加入10  $\mu$ l 的蛋白酶K溶液(20 mg/ml) ，立刻涡旋振荡充分混匀。
  - c. 56°C水浴3小时（福尔马林样品16小时）至裂解完全，中间不时颠倒涡旋。
  - d. 加入25  $\mu$ l 裂解液ML，再加入50  $\mu$ l 结合液CB（加入1  $\mu$ l Poly Carrier），立刻涡旋振荡充分混匀。
  - e. 冷却后加入50  $\mu$ l 无水乙醇，立刻涡旋振荡充分混匀，室温放置5分钟。  
▲如果周围环境高于25°C，乙醇需要冰上预冷后再加入。
  - f. 接操作步骤项下7。
7. 将上一步混合物（包括可能有的沉淀）加入一个吸附柱中，（吸附柱放入收集管中）13,000 rpm离心30-60秒，倒掉收集管中的废液。
  8. 加入500  $\mu$ l 去蛋白液PE（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），13,000 rpm 离心30秒，弃废液。
  9. 加入600  $\mu$ l 漂洗液WB（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），13,000 rpm 离心15秒，弃掉废液。
  10. 加入600  $\mu$ l 漂洗液WB，13,000 rpm 离心15秒，弃掉废液。
  11. 将吸附柱放回空收集管中，13,000 rpm离心2分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
  12. 取出吸附柱，放入一个干净的离心管中，在**吸附膜的中间部位**加10  $\mu$ l -25  $\mu$ l 洗脱缓冲液EB（洗脱缓冲液事先在80-90°C水浴中预热效果更好），室温放置2-3分钟，13,000 rpm 离心1分钟。  
▲洗脱减少洗脱液体积可以提高 DNA 浓度，但是最低洗脱液体积不应少于 6  $\mu$ l。  
▲可选：将第一次洗脱液重新加入吸附柱进行二次洗脱可提高浓度约10%。
  13. DNA可以短时存放在2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在-20°C。

### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。