

痕量血液 DNA 提取试剂盒

一、产品简介

本试剂盒专门为从痕量人或哺乳动物血液中提取 DNA 而设计, 适合处理的样品为血液和各种介质上的干血点(包括滴于纱布或滤纸等吸水材质的干血点、涂抹于墙壁或滴于地面的干血点等); 起始血量为 1-50 μl 血液, 用户可根据血液浸润面积估算实验所需干血点面积, 例如滤纸材质的采血卡起始样品为 1~3 片 3×3 mm 干血点。

方法简单、方便: 优化的裂解液配合蛋白酶 K 最大程度释放 DNA, 调结合条件(无需添加 Carrier RNA), 释放的 DNA 被选择性吸附到硅胶膜上, 漂洗去除抑制物和盐, 低盐溶液洗脱 DNA。获得的 DNA 可直接用于 PCR、RAPD、RFLD 等分子生物学实验。

本试剂盒使用的 DNA 吸附柱-CS 回收 DNA, 最小洗脱体积为 10 μl , 能有效回收 ≥ 50 bp 的 DNA 片段, 预期产量为 30-60 ng DNA/ μl 血液。

如血点滴于滤纸或纸巾等介质, 后者在水溶液中易分散而无法离心去除需单独订购过滤柱-F。

相关产品: 痕量提取试剂盒 (DK803), 适处理的样品为 5×10^4 - 5×10^6 细胞、1-50 μl 唾液或痰液、干燥的唾液(介质包括香烟过滤嘴、滤纸、纸巾、衣物等)、口拭子、1-10 mg 组织(包括石蜡包埋组织或切片、福尔马林或酒精浸泡的组织)、毛囊、指甲和皮屑等。

样品采集卡 DNA 提取试剂盒 (DK804), 适合从 Whatman Indicating FTA Card 采集的唾液和血液中提取 DNA。

二、试剂盒组成和储存

组成内容	DK801-01 (50 次)	DK801-02 (200 次)	原理与用途
Proteinase K*	0.5 ml	1 ml × 2	降解蛋白
Buffer TD1	30 ml	120 ml	裂解细胞、释放 DNA
Buffer TD2	15 ml	60 ml	调整 DNA 结合条件
Buffer WAF	30 ml	120 ml	洗涤去除蛋白和抑制物
Buffer WB2 [§]	16 ml	65 ml	洗涤去除盐
DNA 吸附柱-CS	50 个	200 个	选择性吸附 DNA
收集管	2 × 50 个	2 × 200 个	接收废液
1.5 ml 离心管(用于洗脱)	50 个	200 个	接收洗脱的 DNA
TE*	15 ml	30 ml	洗脱 DNA
说明书	1 份	1 份	

*Proteinase K: 20 mg/ml, 室温保存。可能会析出白色粉末状、絮状或者晶体状不溶物, 不影响使用效果, 使用前混合均匀。

[§]Buffer WB2: 第一次使用前按试剂瓶所示体积加入无水乙醇, 混合均匀。

*TE: 10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, 0.025%NaN₃, pH 8.0(25°C)。

所有组成成分于室温储存。

三、注意事项

1. Buffer TD1、Buffer TD2 和 Buffer WAF 含刺激性化合物, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服、谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛, 立即使用大量水或生理盐水冲洗沾染处, 必要时寻求医疗咨询。
2. 每次使用后应及时盖紧试剂瓶盖, 以免影响下次使用效果, 尤其是 Buffer WAF 和添加了乙醇的 Buffer WB2。

四、实验准备

1. 65°C 水浴或温箱; 65°C 预热 TE 或去离子水 (pH ≥ 7)。
2. 第一次使用前, 按试剂瓶所示体积在 Buffer WB2 中加入无水乙醇, 混合均匀。

五、操作步骤

如未注明，所有离心参数为使用台式快速离心机，室温 12,000-16,000×g；如离心机转速只能设定为 rpm，设定为低于最高转速 1,000 rpm；DNA 吸附柱-CS 中加入溶液后可能会有白色纤维层从底部脱落悬浮于溶液中，不影响使用效果。

1. 在干净的 1.5 -2 ml 离心管中加入起始血量为 1-50 μ l 的人或哺乳动物血液或干血点；
适合处理的干血点包括滴于纱布、滤纸或纸巾等吸水材质的干血点、涂抹于墙壁或滴于地面的干血点等；
用户可根据血液浸润面积估算实验所需血点面积，比如滤纸材质的采血卡起始样品为 1~3 片 3×3 mm 干血点。
2. 加入 **10 μ l Proteinase K** 和 **500 μ l Buffer TD1**，用力摇晃 20 次，将离心管底部立于水平面轻轻敲打，使样品浸没在溶液中；
置于 65℃ 水浴或温箱 3 小时，温育期间至少摇晃混合 2 次，延长不影响使用效果，可温育过夜-----温育时间较长，请合理安排时间
如纱布、滤纸或纸巾等吸水材质体积较大，应适当增加 Buffer TD1 用量，保证介质完全浸没在 Buffer TD1 中。操作步骤 4 应按比例调整试剂用量：
Buffer TD1/ Buffer TD2= 2/ 1。
3. 可选步骤：去除介质
 - A. 全血
无需操作此步骤，继续操作步骤 4；
 - B. 水溶液中不分散的介质：纱布、木片、金属片、塑料片等
无需操作此步骤，但操作步骤 5 需注意勿将介质转入 DNA 吸附柱-CS；
 - C. 水溶液中分散但可离心去除的介质：墙壁漆、泥沙、水泥地面等
离心 1 min，仔细吸取上清转入干净的离心管中，继续操作步骤 4；
 - D. 水溶液中分散且无法离心去除的介质：吸水纸、纸巾等-----需单独订购过滤柱-F
将溶液与介质转入过滤柱-F(置于 2ml 离心管)，1,000-2,000×g 离心 10 秒，丢弃过滤柱-F，继续操作步骤 4；
4. 加入 **250 μ l Buffer TD2**，温和翻转离心管 2 次或缓慢吹打 2 次，避免产生大量气泡-----! 请勿离心，包括简短离心
5. 将步骤 4 中的溶液转入 DNA 吸附柱-CS(置于收集管中)，离心 1 min，将 DNA 吸附柱-CS 转入另一个干净的收集管中。
6. 加入 **500 μ l Buffer WAF**，离心 1 min，弃废液，将 DNA 吸附柱-CS 放回收集管中。
7. 加入 **700 μ l Buffer WB2**，离心 1 min，弃废液，将 DNA 吸附柱-CS 放回收集管中。
8. 加入 **100 μ l Buffer WB2**，离心 2 min。
9. 将 DNA 吸附柱-CS 转入试剂盒携带的 1.5 ml 离心管中，在硅胶膜中央加 $\geq 10 \mu$ l TE 或去离子水(pH ≥ 7.0)，室温放置 5 min，离心 1 min。
 - ▲ 加入洗脱液后需放置时间较长，延长放置时间不影响洗脱效率。
 - ▲ 65℃ 预热 TE 或去离子水(pH ≥ 7.0)，可以提高洗脱效率。
 - ▲ 如使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至 ≥ 7.0 。