

96 样品采集卡 DNA 提取试剂盒

一、产品简介

使用含 DNA 保护成分的滤纸可实现液体生物样品的干燥储存与运输, 通常用于血液与唾液的保存。

本试剂盒适合处理干燥于 Whatman Indicating FTA Card 和苏州新海 Indicating NASS Card 的血液和唾液。Buffer SC1 与 Proteinase K 释放 DNA, Buffer SC2 调整结合条件, 96 过滤板-N 截留去除滤纸后溶液直接滴落于 DNA 吸附柱-T10; 方法简便, 适合处理批量样品。

以 Whatman Indicating FTA Card 为例, 400 mm² 裁剪面积包含约 30 μl 血液或唾液, 使用本试剂盒可获得 1.5-2.5 μg 血液 DNA, 2-3 μg 唾液 DNA, 其纯度可满足 Realtime PCR 要求。

本试剂盒使用 96 DNA 吸附板-T10 回收 DNA, 完全避免个别孔可能被堵塞的情况, 确保样品提取的均一性, 最小洗脱体积为 25 μl, 最大洗脱总体积为 140 μl。

二、试剂盒组成和储存

组成内容	DK804-96-2 (2×96)	原理与用途
Proteinase K*	2×1 ml	降解蛋白
Buffer SC1	125 ml	裂解细胞、释放 DNA
Buffer SC2	60 ml	调整 DNA 结合条件
Buffer WDS	120 ml	洗涤去除蛋白和抑制物
Buffer WAF	120 ml	洗涤去除蛋白和抑制物
Buffer WB2 [§]	65 ml	洗涤去除盐
96 过滤板-N	2 块	过滤去除滤纸
96 DNA 吸附板-T10	2 块	选择性吸附 DNA
96 深孔板 (2.2 ml)	8 块	接收废液
96 U 型板	2 块	接收洗脱的 DNA
不干胶片	8 张	密封 96 孔板
TE*	30 ml	洗脱 DNA

* 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% Na₃N₃, pH 8.0(25°C)。

所有组成成分于室温储存。

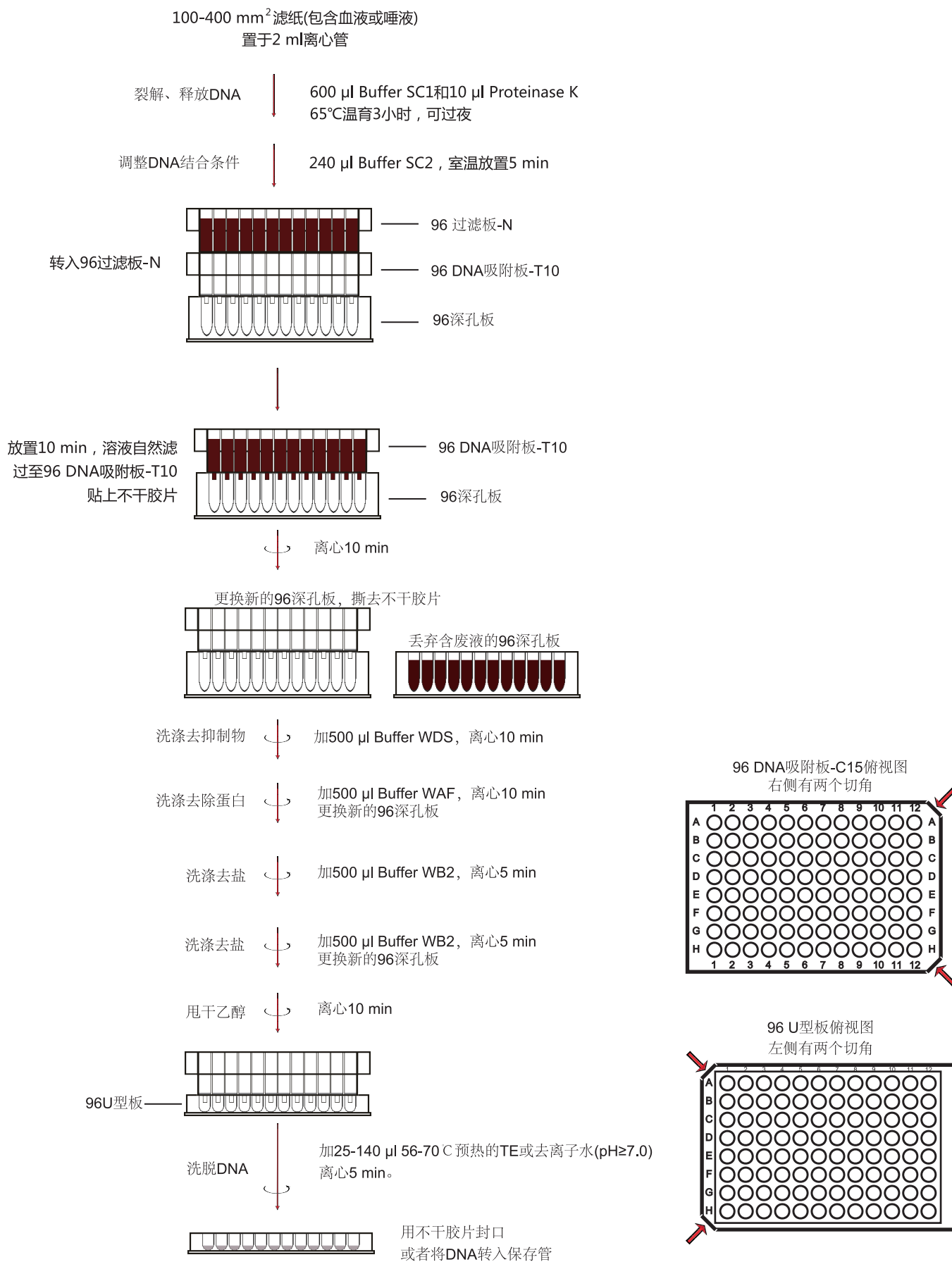
三、注意事项

1. Buffer SC1、Buffer SC2、Buffer WDS、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, 以免影响下次使用效果, 尤其是 Buffer WAF 和添加乙醇后的 Buffer WB2。

四、实验准备

1. 65°C 水浴或温箱; 56-70°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。
3. 1-3ml 吸管。

五、操作流程示意图



六、操作步骤

所有离心条件为：吊篮式水平转子，室温 2,500×g；如果离心力偏低，不利于溶液滤过，最终获得的 DNA 有明显的蛋白、盐和乙醇残留；如果离心力偏高，塑料耗材可能会变形甚至破裂。计速为 rpm 的离心机，按公式计算所需转速：

$$\text{转速(rpm)} = \frac{15007}{\sqrt{R}} \quad R \text{ 为转子半径, 单位 cm.}$$

如果吊篮式水平转子底部不平整，应在底部垫上合适尺寸、平整的铁板或者塑料板。

1. 裁取 100-400 mm² 包含血液或唾液的滤纸，置于 2 ml 离心管中，加入 600 μl Buffer SC1 和 10 μl Proteinase K，剧烈摇晃 20 次混合均匀。

▲使用 2 ml 离心管可保证唾液卡充分浸泡于试剂中，勿使用 1.5ml 离心管或尖底冻存管。

▲为方便操作，可事先将 Buffer SC1 和 Proteinase K 按照比例预混；两者混合后需 1 小时内使用完。。

2. 置于 65°C 水浴或温箱 3 小时，温育期间至少剧烈摇晃一次，延长温育时间不影响效果，可以温育过夜。

3. 加入 240 μl Buffer SC2，剧烈摇晃 10 次混合均匀，室温放置 5 min，延长放置时间不影响效果。

▲摇晃混合后会产生大量泡沫，长时间放置后会消除泡沫，请勿离心。

4. 耗材组装：从下到上为 96 深孔板---96 DNA 吸附板-T10---96 过滤板-N（！请注意编号方向）；

用 1-3ml 吸管吸取步骤 3 中的溶液转入 96 过滤板-N；

室温放置 10 min，使溶液自然滤过滴入 96 DNA 吸附板-T10；

丢弃 96 过滤板-N。

5. 将 96 DNA 吸附板-T10 连同 96 深孔板放入吊篮式水平转子，离心 10 min；将 96 DNA 吸附板-T10 转入另外一块干净的 96 深孔板，撕去不干胶片。

6. 每孔加入 500 μl Buffer WDS，离心 10 min。

7. 每孔加入 500 μl Buffer WAF，离心 10 min；将 96 DNA 吸附板-T10 转入另外一块干净的 96 深孔板。

8. 每孔加入 500 μl Buffer WB2，离心 5 min。

9. 每孔加入 500 μl Buffer WB2，离心 5 min；将 96 DNA 吸附板-T10 转入另外一块干净的 96 深孔板。

10. 离心 10 min。

11. 将 96 DNA 吸附板-T10 按照编号方向转入 96 U 型板，每孔加入 25-140 μl 56-70°C 预热的 TE 或去离子水(pH≥7.0)，离心 5 min。

加入洗脱液体积为 25-100 μl，需将洗脱液准确加在硅胶膜中央；加入洗脱液体积为 100-140 μl，无需注意加样的位置。

56-70°C 预热 TE 或者去离子水(pH≥7.0)，可以提高洗脱效率。

如果使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至≥7.0。

再次加入≥25 μl TE 或去离子水洗脱，可以提高洗脱效率。但洗脱总体积不可超过 140 μl，不然 96 DNA 吸附板-T10 底部会接触液面。