

干血斑 DNA 试剂盒说明书

产品组成

干血斑 DNA 试剂盒 Cat. No.	5 次样品 3012005	50 次制备 3012050	250 次制备 3012250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
1.5 ml 收集管	5 个	50 个	250 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml	1.2 ml $\times$ 5
Buffer AT	1.5 ml	15 ml	75 ml
Buffer SL	1.5 ml	15 ml	75 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml	60 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	10 ml	50 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml	60 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存与有效期

蛋白酶 K 贮存液可室温运输，收到后请置于 -20°C 储存，其他试剂与物品储存于常温（ $0\sim 30^{\circ}\text{C}$ ），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 1~5 片 0.5 cm^2 干血滤纸片样本中分离纯化总 DNA（包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA）。干血片经蛋白酶 K 消化后，释放的 DNA 将结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则过滤除去，DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管
3. 移液器及吸头
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
6. 旋涡振荡器、恒温混匀器或摇床、水浴锅

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C 。
2. 将恒温混匀器或摇床、水浴锅温度设置到 56°C 和 70°C ，将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56°C 。

注意：当室温低于 15°C 时，Buffer AT 可能会有沉淀析出，温育后请仔细观察沉淀是否完全溶解，并颠倒混匀后再使用。

3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤

1. 剪取约 0.5 cm² 干血滤纸片，剪碎，放入 1.5 ml 离心管中。
 - * 如果条件允许，可收集 3-5 片 0.5 cm² 干血滤纸片，以提高最终 DNA 的产量。
2. 加入 250 μl 56°C 温育的 Buffer AT 和 20 μl 蛋白酶 K 贮存液，盖上管盖，旋涡振荡混匀，在恒温混匀器或摇床中 56°C，900 rpm 温育 1 小时。
 - * 如果使用水浴锅，应每隔 10 分钟旋涡振荡一次以帮助溶解。
3. 加入 250 μl Buffer SL，盖上管盖，旋涡振荡约 15 秒混匀，在恒温混匀器或摇床中 70°C，900 rpm 温育 10 分钟。
 - * 小于 0.5 cm² 或者放置时间较久（超过半年以上）的样品，由于 DNA 含量太低或者 DNA 已经产生了降解，推荐在此步骤添加 1 μl Carrier RNA（Simgen Cat. No. 4003101，用户自备）以提高 DNA 的回收效率。
4. 14000 rpm 离心 1 分钟。
 - * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
5. 吸取 400 μl 上清液转移到另一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 320 μl 无水乙醇，盖上管盖，旋涡振荡混匀。低速离心数秒使管盖上的溶液沉降到管底。
6. 吸取步骤 5 中的溶液加入到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于 2 ml 收集管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。
7. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 500 μl Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在收集管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 收集管在纸巾上倒扣拍击一次。
 - * 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。
8. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 600 μl Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。
9. 弃 2 ml 收集管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 收集管中，14000 rpm 离心 1 分钟。
 - * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
 - * 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。
10. 弃 2 ml 收集管，将核酸纯化柱置于一个新的 1.5 ml 收集管中，在核酸纯化柱中加入 25~50 μl 56°C 温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。
 - * 如果所加 Buffer TE 的体积小于 25 μl，可能会导致洗脱液无法润透硅胶膜，反而降低 DNA 的回收效率。
11. 弃核酸纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。