

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 离心管	5 个	50 个	250 个
1.5 ml 离心管	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

1. 蛋白酶 K 贮存液请置于 -20°C 贮存。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温 ($0\sim 30^{\circ}\text{C}$)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ ，可延长产品的有效期至两年以上。

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. 恒温混匀器、摇床或水浴锅和旋涡振荡器

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、摇床或水浴锅温度设置到 56°C 和 70°C ，将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56°C 。
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（自备）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℃温育的Buffer AT和20 μl蛋白酶K贮存液，旋涡振荡混匀，恒温混匀器或摇床中56℃，900 rpm温育1小时。
 - * 如果使用水浴，应每隔10分钟旋涡振荡一次以帮助溶解。
3. 加入250 μl Buffer SL，旋涡振荡约15秒混匀。在恒温混匀器或摇床中70℃，900 rpm温育10分钟。
 - * 如果样本小于0.5 cm²，或者放置时间较久（超过半年以上），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，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离心管中）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离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，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，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将2 ml离心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离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，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离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2 ml离心管中，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离心管，将核酸纯化柱置于一个试剂盒提供的1.5 ml离心管中，在纯化柱中加入25~50 μl 56℃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℃备用。