

## 微量临床样品 DNA 提取试剂盒

货号： NG1005S 50次

试剂盒组成	保存	50次
平衡液	室温	5 ml
裂解液 ML	室温	20ml
结合液 CB	室温	20 ml
抑制物去除液 IR	室温	25 ml
漂洗液 WB	室温	15 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
Acryl Carrier	-20°C	200µl
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml
蛋白酶 K 粉 ( 可选 20mg/ml )	-20°C	20 mg
微量吸附柱 AC 和收集管	室温	50 套

### 储存事项：

1. 结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 为避免降低活性，方便运输，提供蛋白酶 K 为冻干粉状，收到后，可短暂离心后，加入 1 毫升灭菌水溶解。因为反复冻融可能会降低酶活性，因此溶解后立即按照每次使用量分装冻存，- 20°C 保存。
3. 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。

### 产品介绍：

本试剂盒采用特制的进口 DNA 吸附柱和独特的缓冲液系统，特别适合于从微量血液、法医材料、干血点、药签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 在高离子盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜（特别配备了 Acryl 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，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净的基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。纯化后的 DNA 无杂质和 PCR 抑制剂，可直接适用于 PCR 分析。

### 关于平衡液的使用

介绍：核酸吸附硅胶膜柱子长期放置过程中会同空气中的电荷/尘埃发生反应而影响其核酸的结合能力。硅胶柱经平衡液预处理后可大大减少柱子中硅胶膜的憎水基团，提高核酸的结合能力。从而提高硅胶柱子回收效率或者产量。平衡液是强碱性溶液，若不小心碰到，请用大量自来水清洗。用完后需盖紧瓶盖，以免接触空气。室温保存。在保存过程中可能有沉淀生成，请加热至 37°C 使沉淀完全消失。

使用方法：取一个新的硅胶膜吸附柱子装在收集管中，吸取 100 µl 的平衡液至柱子中。13000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中废液，

将吸附柱子重新放回收集管。此时平衡液预处理柱子完毕。接后续的操作步骤。

### 产品特点：

1. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 节省时间，简捷，单个样品操作一般可在 20 min 完成。
3. 配备了 Acryl Carrier 用于充分收集特别微量 DNA。
4. 多次漂洗确保高纯度，提取的 DNA 纯度高，质量稳定，适用于常规操作，包括 PCR、酶切、测序、Southern 杂交等。

### 注意事项：

1. 所有的离心步骤均在室温完成，离心机转速需达到 13,000 rpm。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到特定温度备用。

3. 结合液 CB 和抑制物去除液 IR 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。

4. **Acryl Carrier**使用方法：如果起始处理量很少（口腔咽拭子上收集到的细胞很少），我们推荐使用Acryl Carrier，如果预期有较大量DNA产量，用户可以根据需要选择是否加入Acryl Carrier。使用时在每个样品提取所需400  $\mu$ l结合液CB 中加入4  $\mu$ l Acryl Carrier 将结合液CB 与Acryl 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Acryl Carrier混匀备用。混合液在室温24小时内稳定。

⇒ **建议上样量：**

**血液样品：**取 1-100 $\mu$ l 全血，

**干血点：**用打孔机打孔的方法在血卡(上面有干血点) 上冲取 3mm(1/8 英寸) 直径血卡小片(上面有干血点),最多将 3 个直径 3mm 血卡小片，

**组织样品：**新鲜或者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 <10mg，

**操作步骤：**( 实验前请先阅读注意事项 )

**提示：**

⇒ 第一次使用前请先在 15 ml 漂洗液 WB 中加入 4 倍体积的无水乙醇，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. 微量样品（研磨成粉或液体）加入 400  $\mu$ l 裂解液 ML。
2. 再加入 20  $\mu$ l 的蛋白酶 K (20 mg/ml)溶液，立刻涡旋振荡充分混匀，56 $^{\circ}$ C 放置 1 h，期间每 10 min 涡旋混匀 10 sec。
3. 加入 400  $\mu$ l 结合液 CB ( 300  $\mu$ l 结合液 CB 中加入 4  $\mu$ l Acryl Carrier )，立刻涡旋振荡充分混匀，70 $^{\circ}$ C 放置 10 min。
4. 冷却后加 200  $\mu$ l 无水乙醇，立刻涡旋振荡充分混匀。简短离心以除去管盖内壁的液滴，收集所有的液体到管底。如果周围环境高于 25 $^{\circ}$ C，乙醇需要冰上预冷后再加入。
5. 将上一步混合物加入一个吸附柱 AC 中，( 吸附柱放入收集管中 ) 13,000 rpm 离心 30-60 sec，倒掉收集管中的废液。
6. 加入 500  $\mu$ l 抑制物去除液 IR，12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液。
7. 加入 500  $\mu$ l 漂洗液 WB ( 请先检查是否已加入无水乙醇! )，12,000 rpm 离心 30sec，弃掉废液。
8. 加入 500  $\mu$ l 漂洗液 WB，12,000 rpm 离心 30 sec，弃掉废液。
9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，13,000 rpm 离心 2 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 取出吸附柱 AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加 20 - 50  $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB ( 洗脱缓冲液事先在 65 $^{\circ}$ C 水浴中预热 )，室温放置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min。洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 20  $\mu$ l，体积小降低 DNA 洗脱效率，减少 DNA 产量。
11. DNA 可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在 - 20 $^{\circ}$ C。