

A&DNext 微量 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

A&DNext 微量 DNA 提取试剂盒 Cat. No.	5 次样品 A-3102005	50 次制备 A-3102050
核酸纯化柱	5 个	50 个
2 ml 离心管	5 个	50 个
1.5 ml 离心管	5 个	50 个
蛋白酶 K 贮存液	120 μ l	1.2 ml
Carrier RNA	40 μ l	300 μ l
Buffer AT	1.5 ml	15 ml
Buffer SL	2 ml	15 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

蛋白酶 K 贮存液和 Carrier RNA 请置于 -20°C 贮存。

其他试剂与物品如果储存于室温（15~25°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 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

产品介绍

本产品适合从微量的人或动物组织中分离纯化总 DNA（包括基因组 DNA、线粒体 DNA 及可能存在的病毒 DNA）。动物组织经蛋白酶 K 消化后 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，1M DTT（二硫苏糖醇）
2. 1.5ml 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 1.5ml 离心管和 2ml 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作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

A 干的血迹：

A1. 取 1~3 片直径为 3 mm 的血迹，放入 1.5 ml 离心管（自备）中。

A2. 加入 180 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液。

B 烟头：

B1. 从烟头或是烟头的过滤嘴出剥离 1 cm^2 外层纸片，剪成碎片，放入 1.5 ml 离心管（自备）中。

B2. 加入 250 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液。

C 发根

C1. 取发根 0.5~1 cm 处的片段，放入 1.5 ml 离心管（自备）中。

C2. 加入 180 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液和 15 μ l 1M DTT。

D 头发

D1. 将头发剪成 0.5~1 cm 的片段，放入 1.5 ml 离心管（自备）中。

D2. 加入 180 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液和 15 μ l 1M DTT。

E 指甲碎屑

E1. 将指甲碎屑切成小颗粒，放入 1.5 ml 离心管（自备）中。

E2. 加入 180 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液和 15 μ l 1M DTT。

F 含血液、唾液、精液污渍的衣物

F1. 剪取约 0.5 cm^2 沾有污渍的部分，剪碎，放入 1.5 ml 离心管（自备）中。

F2. 加入 250 μ l Buffer AT 和 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液（如果沾有精液，应再加入 15 μ l 1M DTT）。

3. 旋涡振荡混匀，恒温混匀器或摇床中 56 $^{\circ}\text{C}$ ，900 rpm 温育 1 小时。

* 如果使用水浴，应每隔 10 分钟漩涡振荡一次以帮助溶解。

* 毛发、指甲等不易溶解的标本可适当延长水浴时间（如过夜消化）直至其全部溶解。

4. 加入 5 μ l Carrier RNA 和 250 μ l Buffer SL，旋涡振荡约 15 秒混匀。在恒温混匀器或摇床中 70 $^{\circ}\text{C}$ ，900 rpm 温育 10 分钟。

5. 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。

6. 吸取 400 μ l 上清液转移到另一个洁净的 1.5 ml 离心管中，加入 320 μ l 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。

7. 吸取步骤 6 中的溶液加入到核酸纯化柱中（核酸纯化柱置于 2ml 离心管中），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。

8. 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

* 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 2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

9. 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600 μ l 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。

10. 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 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。

11. 弃 2ml 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 μ l 56 $^{\circ}\text{C}$ 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 μ l，则洗脱的 DNA 浓度可能不再增加。

12. 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 $^{\circ}\text{C}$ 备用。