

版本号: FDI1228

## FinePure Micro DNA Kit

### FinePure 微量样品基因组柱式提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: FD801

**产品内容:**

产品组成	FD801 (50 preps)
Buffer DA	15 ml
Buffer DLT	15 ml
Buffer DW1	13 ml
Buffer DW2	12 ml
Buffer TB	15 ml
Proteinase K	1.2 ml
Carrier RNA	310 µg
RNase Free ddH <sub>2</sub> O	1 ml
FinePure Mini Spin Columns	50 个
2 ml Collection Tubes	50 个

**储存条件:**

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下，可保存 12 个月。Carrier RNA 配置成储液后置于-20℃。Buffer DA 和 Buffer DLT 在低温下可能会有沉淀析出，可在 37℃水浴中重新溶解，摇匀后使用。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

---

## 产品简介：

本试剂盒采用可以特异性结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，样品裂解后，DNA 在高盐条件下与硅胶膜结合，在低盐、高 pH 值时 DNA 从硅胶膜上洗脱下来。

本试剂盒用于从小剂量的血液、干血点、血清/血浆、微量组织、漱口水、毛发、微切割组织等微量样品中提取基因组 DNA，所得基因组 DNA 可直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

## 注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

---

1. 自备试剂：无水乙醇，1 M DTT(提取毛囊毛发)，FinePure Filtration Columns。
2. 如果待处理样本中含有较多不溶杂质，可使用过滤柱 FinePure Filtration Columns（客户自备，目录号 FY000）进行过滤处理。
3. 所有的样品使用前请平衡到室温(15–25℃)。
4. 为了确保从微量样本中得到更多的 DNA，试剂盒配备了 Carrier RNA。由于 Carrier RNA 本身是小核酸，所以得到的基因组测定 OD260 值会比真实值偏大，建议将得到的基因组直接用 PCR 进行检测。

## Carrier RNA 储存液的配制：

Carrier RNA 为冻干粉状，使用时加入 310  $\mu$ l RNase Free ddH<sub>2</sub>O 充分溶解，配制成 1  $\mu$ g/ $\mu$ l 储存液。该储存液应避免反复冻融，冻融次数不能超过 3 次。请将该储存液分装后储存于 -20℃。

## 操作步骤：

使用前请先在 Buffer DW1 和 Buffer DW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 微量血液样品：
  - a. 取 1–100  $\mu$ l 血液到 1.5 ml 的离心管中，不足 100 $\mu$ l 用 Buffer DA 补足。
  - b. 加入 5  $\mu$ l RNaseA (10 mg/ml) 溶液，振荡混匀，室温放置 5 分钟。
  - c. 加入 10  $\mu$ l 的 Proteinase K，涡旋振荡混匀。
  - d. 加入 100  $\mu$ l Buffer DLT，充分颠倒混匀，56℃孵育 10 min，期间应混匀样品 2-3 次，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。

---

**注意：如果血液样品体积<10 µl，请在 100 µl Buffer DLT 中加入 1 µl Carrier RNA 储存液，浓度为 1 µg/µl。加入 Buffer DLT 时可能会产生白色沉淀，一般 70℃孵育时会消失，不会影响后续实验。**

e. 加入 50 µl 无水乙醇，轻轻颠倒混匀，室温放置 3 分钟。

**注意：如果室温超过 25℃，需要先将乙醇置于冰上预冷。**

f. 接步骤 7 继续进行实验。

2. 干血点：

a. 用打孔器打孔或剪裁的方法取三片 3×3 mm 的样品，加入到 1.5 ml 的离心管中。

b. 加入 180 µl Buffer DA。

c. 加入 20 µl Proteinase K，涡旋振荡混匀。56℃孵育 60 分钟，期间应每 10 分钟混合样品 2-3 次。

d. 加入 200 µl Buffer DLT 和 1 µl Carrier RNA 储存液，浓度为 1 µg/µl，涡旋振荡混匀，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。

**注意：加入 Buffer DLT 时可能会产生白色沉淀，一般 70℃孵育时会消失，不会影响后续实验。**

e. 加入 200 µl 无水乙醇，轻轻颠倒混匀样品，室温放置 3 分钟。

**注意：如果室温超过 25℃，需要先将乙醇置于冰上预冷。**

f. 接步骤 7 继续进行实验。

3. 微量组织：

a. 称取不超过 10mg 的动物组织，转入预先装有 180µl Buffer DA 的 1.5ml 离心管。

b. 加入 20 µl Proteinase K，涡旋振荡混匀。56℃孵育 30 到 60 分钟，期间应每 15 分钟混合样品 2-3 次。

c. 加入 200 µl Buffer DLT 和 1 µl Carrier RNA 储存液，浓度为 1 µg/µl，涡旋振荡混匀，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。

d. 加入 200 µl 无水乙醇，轻轻颠倒混匀样品，室温放置 3 分钟。

**注意：如果室温超过 25℃，需要先将乙醇置于冰上预冷。**

e. 接步骤 7 继续进行实验。

4. 微切割样品（包括福尔马林固定的微切割样品）：

a. 加入 15 µl Buffer DA 到 0.2 ml 离心管中，放入微切割样品。

b. 加入 10 µl Proteinase K，涡旋振荡混匀。

- 
- c. 56℃孵育 3 小时（福尔马林样品需要孵育 16 小时）至裂解完全，期间应不时混匀样品。
  - d. 加入 25 μl Buffer DA，再加入 50 μl Buffer DLT 和 1 μl Carrier RNA 储存液，浓度为 1 μg/μl，涡旋振荡混匀，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。
  - e. 加入 50 μl 无水乙醇（96–100%），轻轻颠倒混匀样品，室温放置 3 分钟。  
**注意：如果室温超过 25℃，需要先将乙醇置于冰上预冷。**
  - f. 接步骤 7 继续进行实验。

5. 法医材料：

- a1. 从毛发根部毛囊处取 1 cm 长度毛发放入 1.5ml 离心管，加入 250μl Buffer DA，20 μl Proteinase K 和 20 μl 1M DTT 溶液，涡旋振荡混匀，接步骤 b。
- a2. 取约 0.5 cm<sup>3</sup> 沾染了血液、唾液或精液的材料并剪成小块放入 1.5ml 离心管，加入 300 μl Buffer DA，20 μl Proteinase K，涡旋振荡混匀，接步骤 b。

**注意：如果样本是精液，还需要另加入 20 μl 1M DTT 溶液。**

- a3. 将指甲剪成小块放入 1.5 ml 离心管，加入 300 μl Buffer DA，20 μl Proteinase K 和 20 μl 1M DTT 溶液，涡旋振荡混匀，接步骤 b。

**注意：如果样本是精液，还需要另加入 20 μl 1M DTT 溶液。**

- b. 56℃孵育至样本完全裂解，每 10 min 应混合样品 2-3 次。

**注意：一般毛发 60 min 即可完成裂解，指甲等难裂解物建议过夜裂解。**

- c. 加入 300 μl Buffer DLT 和 1 μl Carrier RNA 储存液，浓度为 1 μg/μl，涡旋振荡混匀，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。
- d. 加入 300 μl 无水乙醇，轻轻颠倒混匀样品，室温放置 3 分钟。

**注意：如果室温超过 25℃，需要先将乙醇置于冰上预冷。**

- e. 接步骤 7 继续进行实验。

6. 从血清/血浆中提取循环核酸/游离核酸：

- a. 取 100–200 μl 血清/血浆到 2ml 的离心管中，不足 100 μl 用 Buffer DA 补足。
- b. 加入 20 μl 的 Proteinase K，涡旋振荡混匀。
- c. 加入 200 μl Buffer DLT，充分颠倒混匀，56℃孵育 10 min，期间应混匀样品 2-3 次，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。

**注意：如果血清/血浆样品体积<50 μl，请在 200 μl Buffer DLT 中加入 1 μl Carrier RNA 储存液，浓度为 1 μg/μl。加入 Buffer DLT 时可能会产生白色沉淀，一般 70℃孵育时**

---

会消失，不会影响后续实验。

d. 加入 200  $\mu$ l 无水乙醇，轻轻颠倒混匀，室温放置 3 分钟。

**注意：如果室温超过 25 $^{\circ}$ C，需要先将乙醇置于冰上预冷。**

e. 接步骤 7 继续进行实验。

7. 取上一步所得溶液转入至吸附柱 FinePure Mini Spin Columns（吸附柱放在收集管中），12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
8. 加入 500  $\mu$ l Buffer DW1（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）至吸附柱中，12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
9. 加入 500  $\mu$ l Buffer DW2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）至吸附柱中，12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
10. 加入 500  $\mu$ l Buffer DW2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇）至吸附柱中，12,000 rpm 离心 30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
11. 12,000 rpm 离心 3 min，倒掉收集管中的废液。将吸附柱转入一个新的 1.5ml 离心管中。
12. 向吸附膜中间位置悬空滴加 30–50  $\mu$ l Buffer TB，室温静置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min，得到 DNA 溶液。

**注意：洗脱 Buffer 体积不应少于 30  $\mu$ l，体积过小影响回收效率。如用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内(可用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)。DNA 溶液请于 -20 $^{\circ}$ C 保存。**