

法医样品 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Forensic DNA Kit

货号	D3591-00	D3591-01	D3591-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind [®] DNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	15 个	150 个	600 个
BL Buffer	1.5 mL	13 mL	50 mL
TL Buffer	1.1 mL	11 mL	44 mL
HBC Buffer	4 mL	25 mL	80 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	20 mL	3 x 25 mL
Elution Buffer	5 mL	15 mL	50 mL
OB Protease Solution	150 μ L	1.4 mL	4 x 1.4 mL
User Manual	✓	✓	✓

注意：试剂的配量按照干血、体液和精液样品标准方案来配备，特殊样品例如口腔拭子，头发等样品需要更多的溶液，需单独订购。

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. OB Protease Solution 室温可放置 12 个月，长期保存建议放置 2-8°C；
3. 当贮存温度较低时，TL Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
4. 本试剂盒仅限科研研究使用。

★ 实验前准备

1. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	DNA Wash Buffer 稀释	HBC Buffer 稀释
	无水乙醇 加入量	异丙醇 加入量
D3591-00	8 mL	1.6 mL
D3591-01	80 mL	10 mL
D3591-02	100 mL (每瓶)	32 mL

★ 提取步骤 —— 标准方案

该方案适合提取滤纸片上的干血、体液以及精液的 DNA。

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
 - ✓ 无核酸酶的 1.5mL 或 2 mL 离心管以及吸头
 - ✓ 无水乙醇、异丙醇
 - ✓ 温度可达 55°C、60°C 和 70°C 的孵育装置
 - ✓ 涡旋仪
 - ✓ (可选) 3M NaOH
1. 将滤纸上的干血 (或其它样品) 剪下来，并切成小块放置于一新的 1.5 mL 无酶离心管中。每个滤纸片最多可以使用 200 μ L 的血液；
注意：每一份样品使用 3-4 片 (直径~3mm) 的血液滤纸片。
 2. 加入 200 μ L TL Buffer, 55°C 孵育 15min, 期间每 2min 混匀一次；
 3. 加入 25 μ L OB Protease Solution, 涡旋混匀；
 4. 置于水浴锅中 60°C 孵育 45min, 期间偶尔混匀。孵育后短暂离心 3~5s 使管盖及管壁液体甩至底部；
 5. 加入 225 μ L BL Buffer, 涡旋混匀；
 6. 60°C 孵育 10min。室温 12,000xg 离心 5min, 转移上清液到一新的无菌 1.5 mL

离心管中，注意不要吸到沉淀物；

7. 加入 300 μL 异丙醇，涡旋彻底混匀；
8. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套入收集管中；

可选柱平衡处理：

- 1) 往空 HiBind[®] DNA Mini Column 内加入 100 μL 3M NaOH，静置 4min；
- 2) 室温下 13,000xg 离心 30-60s，弃除滤液，将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套入收集管中。

9. 转移上一步得到的混合液到结合柱中（每次转移的混合液 \leq 700 μL ），室温 12,000xg 离心 1min，弃滤液和收集管；
10. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套入新的收集管中，加入 500 μL HBC Buffer（已加异丙醇正确稀释）至结合柱中，12,000xg 离心 30s，弃滤液；
注意：HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。
11. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套回收集管中，加入 700 μL DNA Wash Buffer（已加无水乙醇正确稀释）至结合柱中，12,000xg 离心 1min，弃滤液；
注意：DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
12. 重复步骤 11 进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤；
13. 将 HiBind[®] DNA Mini Columns 套回收集管中，12,000xg 离心空甩 2min。
14. 将 HiBind DNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管，加入 50-100 μL 70 $^{\circ}\text{C}$ 预热的 Elution Buffer 至结合柱中，室温放置 3min，然后 12,000xg 离心 1min 洗脱 DNA。
15. 进行二次洗脱：把上一步离心获得洗脱产物重新吸回柱子，室温放置 1-3min，然后 12,000xg 离心 1min 洗脱 DNA。
16. DNA 产物放置-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

提示：扎手指产生的血斑通常不超过 50 μL 的血液，可得到的 DNA 量大约 500ng-1 μg 。足够进行 PCR 扩增，但是为了或者更高的浓度，建议使用 50 μL Elution Buffer 重复洗脱两次。

★ 提取步骤 —— 新鲜或冷冻精液样品

该方案适合从新鲜或者冷冻的精液样品中提取 DNA，冷冻样品在提取前需完全解冻。裂解时间需要根据样品的量以及密度而定。

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 适配 15mL 离心管，转速可达 2,500xg 的离心机
- ✓ 无核酸酶的 2mL 离心管、15mL Corex 玻璃离心管以及无酶吸头
- ✓ 无水乙醇、异丙醇
- ✓ 温度可达 60°C、70°C 的孵育装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ NaCl, EDTA, Tris-HCl, SDS, 2-巯基乙醇用于配制 Buffer A 和 Buffer B
- ✓ (可选) 3M NaOH

按照以下配方配制 Buffer A 和 Buffer B。

Buffer A	150mM NaCl 10mM EDTA, pH8.0	Buffer B	10mM Tris-HCl, pH8.0 10mM EDTA 500mM NaCl 1% SDS 2% 2-巯基乙醇
----------	--------------------------------	----------	--

1. 加 50-250 μ L 的精液样本到含有 10 mL Buffer A 的 15mL Corex 玻璃离心管中，涡旋 10s 混匀；
注意：使用 Corex 玻璃离心管是为了防止精子附着在离心管壁上。
2. 室温 2,500xg 离心 10min；
3. 小心吸弃上清液，最后留下大约 1mL 的 Buffer A 和沉淀，涡旋 10s 混匀。短暂离心收集管壁液滴；
4. 转移样品到一个新的 2 mL 离心管中。
5. 再次加入 500 μ L 的 Buffer A 到 Corex 玻璃离心管中，冲洗离心管；
6. 涡旋 30s 混匀，短暂离心收集管壁液滴；

7. 转移样品到步骤 4 的离心管中;
8. 12,000xg 离心 2 min, 小心弃除上清不要吸到沉淀物;
9. 加 200 μ L Buffer B, 涡旋重悬沉淀; 再加入 50 μ L OB Protease Solution, 涡旋混匀;
10. 于水浴锅中 60°C 孵育 2h, 期间混匀几次。
11. 加入 250 μ L BL Buffer 和 260 μ L 无水乙醇, 涡旋混匀, 短暂离心收集管壁液滴。
12. 按照“标准方案”的步骤 8-16 继续操作。

★ 提取步骤 —— 棉签拭子样品

用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心转速可达 14,000xg 的小型离心机
 - ✓ 无核酸酶的 2mL 离心管及吸头
 - ✓ 无水乙醇、异丙醇、PBS 缓冲液
 - ✓ 温度可达 60°C、70°C 的孵育装置
 - ✓ 涡旋仪
 - ✓ (可选) 3M NaOH
1. 用口腔拭子在口腔内侧左右两边各刮 6-7 次。收集后空气或真空干燥 2h;
注意: 采样前至少 30min 不能进食或饮酒。
 2. 把棉签拭子样品折断棉头放置 2 mL 离心管中;
 3. 加入 550 μ L PBS 缓冲液和 25 μ L OB Protease Solution;
 4. 加入 550 μ L BL Buffer, 高速涡旋混匀 30s;
 5. 60°C 孵育 30min, 孵育期间混匀几次;
 6. 室温 12,000xg 离心 5min; 转移上清液到新的 2mL 离心管中;
 7. 加入 550 μ L 无水乙醇, 高速涡旋 15s 彻底混匀, 短暂离心收集管盖液滴;
 8. 按照“标准方案”的步骤 8-16 继续操作。

★ 提取步骤 —— 生物样品中细菌 DNA 提取

用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心转速可达 14,000xg 的小型离心机
 - ✓ 无核酸酶的 1.5mL、2mL 离心管及吸头
 - ✓ 无水乙醇、异丙醇、PBS 缓冲液
 - ✓ 温度可达 55°C、60°C、70°C 的孵育装置
 - ✓ 涡旋仪
 - ✓ (可选) 3M NaOH
1. 室温 5,000xg 离心 10min 从生物样品中沉淀收集细菌;
 2. 加入 200 μ L TL Buffer, 高速涡旋 30s 重悬细菌团;
 3. 55°C 孵育 15min, 每 2min 混匀一次;
 4. 加入 25 μ L OB Protease Solution, 涡旋混匀;
 5. 60°C 孵育 45min, 期间偶尔混匀;
 6. 短暂离心收集管盖液滴, 加入 225 μ L BL Buffer, 涡旋混匀;
 7. 60°C 孵育 10min, 短暂离心收集管盖液滴;
 8. 加入 300 μ L 异丙醇, 涡旋混匀, 短暂离心收集管盖液滴;
 9. 按照“标准方案”的步骤 8-16 继续操作。

★ 提取步骤 —— 唾液样品

用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心转速可达 14,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 1.5mL、2mL、15mL 离心管及吸头
- ✓ 无水乙醇、异丙醇、PBS 缓冲液
- ✓ 温度可达 60°C、70°C 的孵育装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ (可选) 3M NaOH, RNase A

1. 在含有 6mL PBS 缓冲液的 15 mL 离心管中加入 1.5mL 的唾液样品,涡旋混匀;
2. 室温 2,000xg 离心 5min, 弃上清;
3. 加入 180 μ L PBS 缓冲液, 重悬沉淀, 转移混合液到 1.5mL 或 2mL 的离心管中;
注意: 如果需要得到无 RNA 污染的 DNA, 每个样品加入 20 μ L RNase A, 混匀后室温放置 5min。
4. 加入 25 μ L OB Protease Solution, 涡旋混匀;
5. 加入 200 μ L BL Buffer, 涡旋 30s 混匀;
6. 60°C 孵育 15min, 期间偶尔混匀。短暂离心收集管盖液滴;
7. 加入 200 μ L 异丙醇, 涡旋混匀, 短暂离心收集管盖液滴;
8. 按照“标准方案”的步骤 8-16 继续操作。

★ 提取步骤 —— 毛发、指甲及羽毛

用户自备仪器及耗材:

- ✓ 离心转速可达 14,000xg 的小型离心机
 - ✓ 无核酸酶的 1.5mL、2mL、15mL 离心管及吸头
 - ✓ 无水乙醇、异丙醇、PBS 缓冲液、1M DTT (二硫苏糖醇)
 - ✓ 温度可达 60°C、70°C 的孵育装置
 - ✓ 涡旋仪
 - ✓ (可选) 3M NaOH, RNase A
1. 取样品 0.5-1cm 至 1.5mL 离心管中, 注意: 对于毛发, 请从毛发根部剪下; 对于羽毛, 请选择初级羽毛 (大型鸟类, 可以使用尾、次尾或胸毛), 若直接剪下毛囊部分;
 2. 加入 250 μ L TL Buffer, 加入 25 μ L OB Protease Solution 和 20 μ L 1M DTT, 涡旋混匀;
 3. 60°C 孵育 30min, 期间偶尔混匀;

4. 加入 250 μ L BL Buffer, 涡旋混匀;
5. 加入 250 μ L 无水乙醇, 涡旋混匀, 短暂离心收集管盖液滴;
6. 按照“标准方案”的步骤 8-16 继续操作。

★ 产品信息卡



更多详情, 请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



中国总代理: 广州飞扬生物工程有限公司

技术支持: 020-32051125

企业 QQ: 800848200 (人工客服在线)

中文网站: omegabiotek.com.cn



如需查询代理商名录, 请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源, 请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒, 我司恕不提供任何质量保证及售后服务。