痕迹 DNA 提取试剂盒（柱式法）使用说明书

【预期用途】

痕迹 DNA 提取试剂盒（柱式法）用于从各种痕迹样本中分离纯化基因组 DNA。

【检验原理】

在裂解吸附液和蛋白酶 K 的作用下基因组 DNA 与蛋白质分离，在裂解吸附液高盐低 pH 的环境下，吸附柱内的硅胶膜高效吸附分离的 DNA；洗涤吸附柱，去除蛋白、盐等杂质；在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶膜释放吸附的 DNA，从而达到快速分离纯化基因组 DNA 的目的。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-TrD01	消化液	500μL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 瓶
	裂解吸附液 D	13mL×1 瓶	25mL×1 瓶	50mL×1 瓶
	蛋白酶 K	1.3mL×1 支	2.5mL×1 支	5mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	吸附柱（含收集管）	50 支	100 支	200 支
	洗脱液 B	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

消化液：常温（10-30℃）运输，2-8℃保存；
蛋白酶 K：常温（10-30℃）运输，-20℃保存；
其他成分：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】➢使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制RAW1，RAW1中乙醇含量低于60%会影响提取效果。
2. 提前配制80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于80%会影响提取效果。
3. 洗脱液使用量太少会影响提取效果。
4. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
5. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
6. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

香烟过滤嘴、牙刷、口腔拭子、含干燥唾液（痰液、血迹、精斑）的介质（滤纸、纸巾、衣物等）、含血液或上皮细胞的样本采集卡、尿液、唾液、痰液、精液、精斑、全血、血凝块、指甲、含毛囊的毛发等。

【适用范围】≦5.0×10^6 个细胞（脱落细胞）。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力≥12,000×g）、振荡仪、金属浴、1.5mL 离心管、生理盐水和无水乙醇等。

- **RAW1 配制：** RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：** 1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。

【样本处理】

1 口腔拭子或牙刷

将剪碎的口腔拭子或牙刷刷毛放入 1.5mL 离心管中，加入 250μL 生理盐水。

2 含干燥唾液(痰液、血迹)的介质(滤纸、纸巾、衣物)或香烟过滤嘴2-6mm部分

将剪碎的含唾液、痰液、血迹的介质或香烟过滤嘴2-6mm部分放入1.5mL离心管中，加入250μL生理盐水。

3 含血液或上皮细胞的样本采集卡

将样本采集卡上含血液（上皮细胞）的部分剪碎后放入1.5mL离心管中，加入250μL生理盐水。

4 精斑

将剪碎的含精斑的介质加入1.5mL离心管中，加入250μL生理盐水和6μL消化液。

5 精液

5.1 取适量精液，加入 1 倍精液体积的生理盐水，充分混匀。12,000×g 离心 1 分钟，弃上清，保留精液沉淀；

5.2 加入200μL生理盐水充分悬浮精液沉淀，加入5μL消化液，转移至1.5mL离心管。

6 毛发

6.1 取 1-5 根毛发（毛发末端可见清晰的毛囊）。

➢将取下的毛发在室温下干燥 5 分钟后然后再放在白纸上。因为刚采下的毛发粘性较大，若立即放在白纸上，毛囊可能与纸粘连，影响 DNA 的提取。

6.2 用剪刀剪去大部分毛干，将保留的毛囊组织放入 1.5mL 离心管中，加入 200μL 生理盐水。

7 指甲

7.1 取 15mg 尽量剪碎的指甲加入 1.5mL 离心管中。

7.2 加入 220μL 生理盐水和 10μL 消化液。闭盖，室温 3,000rpm 振荡 30 分钟。

7.3 取出离心管，瞬时离心。

8 血液

8.1 全血

在 1.5mL 离心管中加入 200μL 全血。如血量不足，用生理盐水补充至 200μL，吹打混匀。

8.2血凝块

8.2.1 取适量血凝块加入液化柱（**自备**）中，12,000×g 离心 1 分钟，收集滤液。

8.2.2 在 1.5mL 离心管中加入 200μL 滤液。如滤液不足，用生理盐水补充至 200μL，充分混匀。

9 尿液样本

9.1 取一定量新鲜样本加入 1.5mL 离心管中，12,000×g 离心 1 分钟。吸弃上清，保留沉淀。

9.2 在沉淀中加入 500μL 生理盐水，充分悬浮沉淀。12,000×g 离心 1 分钟。弃上清，保留沉淀。

9.3 在沉淀中加入 200μL 生理盐水，充分悬浮沉淀。

10 痰液和唾液样本

10.1 在痰液中加入 5 倍体积的**消化缓冲液**/唾液样本中加入 3 倍体积的**消化缓冲液**，室温充分振荡，使粘液完全液化。

➢消化缓冲液的配置：1mL 生理盐水中加入 40μL 的消化液，吹打混匀。

10.2 取一定量的液化后的样本加入 1.5mL 离心管中，12,000×g 离心 1 分钟。吸弃上清，保留沉淀。

10.3 在沉淀中加入 200μL 生理盐水，充分悬浮沉淀。

【操作步骤】

1.**A 全血、血凝块、尿液、唾液、痰液、精液、指甲和毛发样本：**在含已处理样本的 1.5mL 离心管中加入 200μL 裂解吸附液 D 和 20μL 蛋白酶 K，吹打混匀。
B 除全血、血凝块、尿液、唾液、痰液、精液、指甲和毛发以外的样本：在含已处理样本的 1.5mL 离心管中加入 250μL 裂解吸附液 D 和 25μL 蛋白酶 K，3,000rpm 振荡 1 分钟。

2. **A 毛发样本：**有恒温振荡金属浴的操作程序：60℃ 1,500rpm 振荡孵育 2 小时；无恒温振荡金属浴的操作程序：60℃静置孵育 2 小时，孵育过程中每 30 分钟振荡混匀 1 次；
B 指甲样本：有恒温振荡金属浴的操作程序：60℃ 1,500rpm 振荡孵育 10 分钟；无恒温振荡金属浴的操作程序：60℃静置孵育 10 分钟，孵育过程中每 3 分钟振荡混匀 1 次；
C 除毛发和指甲以外的样本：60℃静置孵育 10 分钟。

3. **A 全血、血凝块、尿液、唾液、精液、痰液和毛发样本：**取出离心管，瞬时离心。开盖，加入 200μL 无水乙醇，吹打混匀。将吸附柱放入收集管中，转移所有液体至

吸附柱；

B 指甲样本：取出离心管，瞬时离心。开盖，吸取 400μL 裂解后的液体至 1.5mL 离心管。加入 200μL 无水乙醇，吹打混匀。将吸附柱放入收集管中，转移所有液体至吸附柱；

C 除全血、血凝块、尿液、唾液、痰液、精液、指甲和毛发以外的样本：取出离心管，瞬时离心。开盖，吸取 500μL 裂解后的液体至 1.5mL 离心管。加入 250μL 无水乙醇，吹打混匀。将吸附柱放入收集管中，转移所有液体至吸附柱。

4. 闭盖 12,000×g 离心 1 分钟。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

5. 开盖，在吸附柱中加入 600μL RAW1，闭盖 12,000×g，离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

6. 开盖，在吸附柱中加入 600μL 80%乙醇水溶液，闭盖 12,000×g 离心 20 秒。取出吸附柱，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中。

7. 开盖，在吸附柱中加入 600μL 无水乙醇，闭盖 12,000×g 离心 20 秒。取出吸附柱，丢弃收集管。

8. 将吸附柱放入新的 1.5mL 离心管中，闭盖 12,000×g 离心 3 分钟，丢弃离心管。

9. 将吸附柱转入新的 1.5mL 离心管中，开盖，加入 30μL 洗脱液 B 至吸附柱中心。闭盖室温静置 3 分钟，12,000×g 离心 1 分钟，收集洗脱液，备用。

➢洗脱液 B 的使用量可以根据需要调整，但不得低于 30μL。

【说明书编制日期】2024 年 06 月 15 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司
公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室
网　　址：http://www.wuxi-medtech.com
联系电话：17315620564（微信同号）；　13861757779（微信同号）