

血液组织细胞基因组 DNA 提取试剂盒说明书

【产品简介】

本试剂盒用于核酸的提取、富集、纯化等步骤，其处理后的产物可用于临床体外检测使用。

本试剂盒使用超顺磁性微球可以特异性的吸附 DNA，通过洗涤去除 DNA 以外的蛋白质等杂质。洗脱液解离吸附在磁珠上的 DNA，分离纯化得到高质量核酸。

【规格】

100 人份 / 盒

【储存条件】

2-8℃下有效期为 24 个月。

【试剂盒组成】

序号	组分	规格
1	磁珠悬液 ①，50 mg/mL	1×2 mL
2	裂解液 ②	1×25 mL
3	洗涤液 I ③	1×60 mL
4	洗脱液 ④	1×30 mL
5	蛋白酶 K ⑤	1×20 mg
6	溶液 A ⑥	1×1 mL

适用仪器

本试剂盒适用于 BIO-DL32, TIANGEN TGuide S32, TIAN LONG NP968 -C 等自动化核酸提取仪，也适用于手动提取。

样本要求

新鲜或冷冻的抗凝处理的人全血样品、组织及细胞。

使用方法

首次使用前：

(1) 在洗涤液 I ③中缓慢加入指定量（见瓶身标签）的异丙醇（分析纯，需客户自备），并于“□”内打上“√”，混匀后 2~8℃保存。

(2) 在蛋白酶 K 干粉 ⑤ 中加入指定量（见管身标签）的溶液 A ⑥，并于“□”内打上“√”，混匀后保存于 2~8℃，或分装后保存于 -20℃。

一、手动操作流程

1. 客户自备物品：

- | | |
|----------------------------|--|
| ◆ 异丙醇（分析纯） | ◆ 漩涡振荡器 |
| ◆ 80% 乙醇 | ◆ 垂直混合仪 |
| ◆ 1.5mL 离心管：2 个 / 样品 | ◆ 恒温金属浴（Dry Bath Incubator, Cat.:2016C）或水浴锅（55℃） |
| ◆ 单通道移液器：20μL、200μL、1000μL | ◆ 磁性分离器 |

2. 操作步骤

(1) 裂解

取一个新的 1.5mL 离心管，加入 200μL 的抗凝血液样品、组织或细胞（细胞取 1.0-1.5E6 cells 进行提取），具体可根据实验调整（不足 200μL 时可用 PBS 或洗脱液④补足），再分别加入 10μL 的蛋白酶 K ⑤（检查是否已加入溶液 A ⑥）和 230μL 的裂解液②，以涡旋振荡器最大转速漩涡震荡 10s 后，置于 55℃ 条件下反应 5min。

(2) 结合

加入 320 μ L 的异丙醇和 20 μ L 的磁珠悬液①，以涡旋振荡器最大转速漩涡震荡 10min（或漩涡震荡 10s 后置于垂直混合仪上反应 10min）。快速离心 3s 后，然后将离心管置于磁性分离器上放置 2min，用移液器移去上清液并取下离心管。

注意：此步骤的磁性分离时间应不少于 2 min。

（3）洗涤

①. 加入 600 μ L 洗涤液 I③（检查是否已加入异丙醇），以涡旋振荡器最大转速漩涡震荡至少 1min，使磁珠充分重悬，快速离心 3s 后，再将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，移去上清液并取下离心管。重复该步骤一次。

②. 加入 600 μ L80% 乙醇，以涡旋振荡器最大转速漩涡震荡至少 1min，使磁珠充分重悬，快速离心 3s 后，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，移去上清液并取下离心管。重复该步骤一次。

注意：最后一步洗涤应尽量除尽洗涤液。

（4）干燥

保持离心管于磁性分离器上，于室温下静置 10min 后，即磁珠表面无明显光泽，取下离心管。

注：干燥过程中若发现反应管中有液体残留时，可用小量程移液器吸弃液体。

（5）洗脱

加入 100~200 μ L 洗脱液④，涡旋震荡，或用移液器缓慢吹打磁珠，使磁珠充分重悬。然后于 55℃条件下加热 5min，快速离心 3s 后，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，转移上清液至新的 1.5mL 离心管中，此即为纯化得到的基因组 DNA，可保存于 -20℃。

一、自动化操作流程

1. 客户自备物品：

- ◆ 磁棒式自动化核酸提取仪（BIO-DL 32，TIANGEN TGuide S32，
- ◆ 异丙醇（分析纯）

TIANLONG NP968 -C 等)

◆ 96 孔磁棒套 2 个

◆ 96 孔深孔板 1 个

◆ 80% 乙醇

◆ 1.5 mL 离心管：2 个 /

样品

◆ 单通道移液器：20μL、

200μL、1000μL

2. 操作步骤

(1) 在 96 孔深孔板第 1 列和第 7 列依次加入 10μL 蛋白酶 K (检查 是否已经加入溶液 A)，200μL 样本，230μL 裂解液和 320μL 异丙醇。

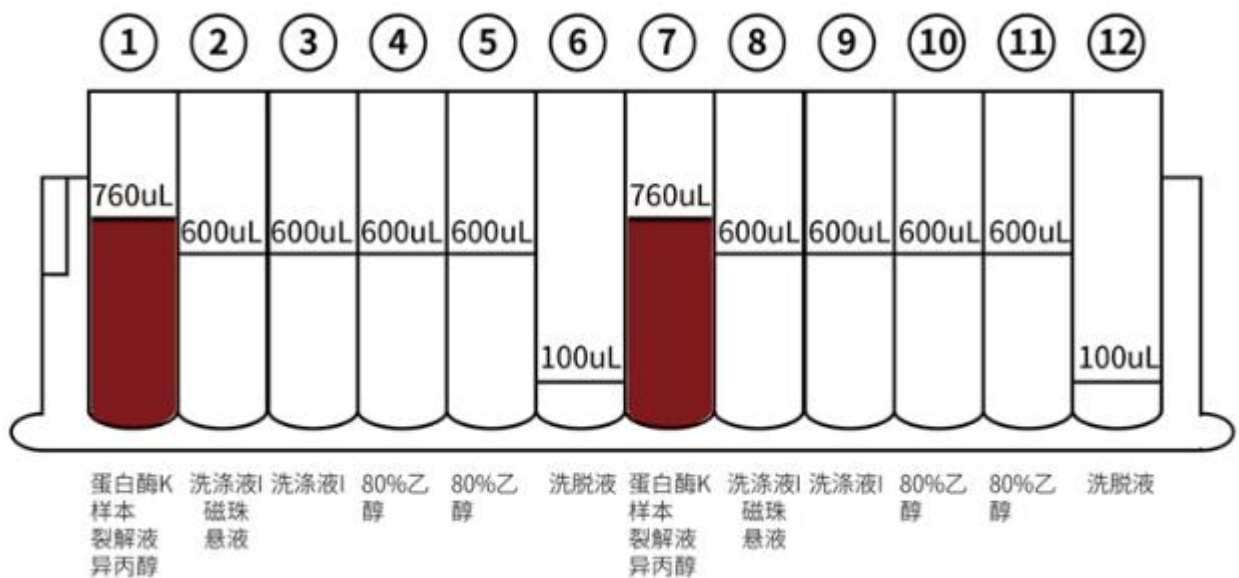
(2) 在第 2 列和第 8 列加入 600μL 洗涤液 I (检查是否已加入异丙醇) 和 20μL 磁珠悬液。

(3) 在第 3 列和第 9 列加入 600μL 洗涤液 I (检查是否已加入异丙醇)。

(4) 在第 4 列和第 10 列加入 600μL 80% 乙醇。

(5) 在第 5 列和第 11 列加入 600μL 80% 乙醇。

(6) 在第 6 列和第 12 列加入 100~200μL 洗脱液。



注意：第 1 列和第 7 列试剂加入时按照以下顺序加入，先加入 10μL 蛋白酶 K，再加入 200μL 样本，然后加入 230μL 裂解液，最后加入 320μL 异丙醇。（若试剂加入顺序不对，可能导致核酸提取浓度及

纯度偏低。)

7) 自动化核酸提取仪提取参数设置建议:

步骤	名称	槽位	等待时间 (sec)	混合时间 (sec)	磁吸时间 (sec)	吸磁模式	混合速度	体积 (μ L)	规格 ($^{\circ}$ C)
1	吸磁珠	2	0	60	120	循环	快	600	OFF
2	裂解	1	0	1200	180	循环	快	760	75
3	洗涤 1	2	0	120	100	循环	快	600	OFF
4	洗涤 2	3	0	120	100	循环	快	600	OFF
5	洗涤 3	4	0	120	30	循环	快	600	OFF
6	洗涤 4	5	0	120	30	循环	快	600	OFF
7	洗脱	6	350	300	100	循环	快	100	60
8	弃磁珠	2	0	60	0	循环	快	600	OFF

注意: 以上程序参数可根据实际情况进行适当调整。其中关键步骤为裂解步骤的混合时间、温度, 及洗涤步骤的混合时间, 若提取效果不佳, 可适当延长上述时间。

(8) 自动化程序结束后, 将第 6 及第 12 列的洗脱液分别转移至新的离心管中, 此即为纯化得到的基因组 DNA, 可保存于 -20°C 。

注意事项

1. 操作之前, 请务必认真阅读本产品手册。
2. 血液样品的质量对产物 DNA 的纯化量有较大影响, 应避免反复冻融血液样品。
3. 蛋白酶 K 干粉溶解后, 可分装储存于 -20°C , 但应避免反复冻融。
4. 应避免对磁珠进行冷冻、离心等操作。
5. 磁珠取用前应充分重悬均匀。

6. 磁珠干燥前，应使用移液器吸尽洗涤液。
7. 应避免磁珠过度干燥，否则会严重降低核酸洗脱效率。
8. 建议使用质量较好的离心管和移液器吸头，避免因粘附磁珠而造成损失。
9. 在 96 孔板中进行磁性分离操作时，磁珠吸附时间可适当延长。

