

核酸提取或纯化试剂

磁珠法通用型基因组 DNA 提取试剂盒说明书

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

【包装规格】

200 人份/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【检验原理】

含有靶核酸的待分离样品经裂解液裂解细胞后，利用磁珠与核酸 DNA 特异性识别和高效结合的原理，通过洗涤、洗脱、纯化过程得到高纯度的核酸。

【主要组成成份】

本试剂盒由以下组分组成：

试剂名称	200 人份
缓冲液 GAS (Buffer GAS)	120 ml
裂解液 GHL (Buffer GHL)	100 ml
缓冲液 GDZ (Buffer GDZ)	2 x 120 ml
漂洗液 PWD (Buffer PWD)	40 ml
洗脱缓冲液 TB (Buffer TB)	60 ml
蛋白酶 K (Proteinase K)	2x1 ml
磁珠悬浮液 G (MagAttract Suspension G)	3x1 ml

【储运条件及有效期】

试剂置于室温（15~30℃）下保存，有效期为 12 个月。

【适用仪器】

需要移液器，磁力架，全自动核酸提取仪等仪器设备配合使用。

【生产日期】

见外包装标签。

【样本要求】

1. 适用样本类型：血液、唾液、口腔拭子和动物组织等样品。
2. 样本采集：按照常规采集方法进行采集。
3. 样本保存和运送：经上述采集的待测样本可立即用于处理，或在密封，干燥（湿度低于 30%），2~8℃条件下保存（此条件下可保存 5 年）。样本运送应采用冰壶加冰或泡沫箱加冰密封运输

【操作方法】

使用前请先在缓冲液 GDZ 和漂洗液 PWD 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶子上的标签。

A、血液基因组 DNA 提取

1. 取 250 μ l 血液样品至 2 ml 离心管中。
2. 加入 10 μ l Proteinase K 溶液。
3. 加入 250 μ l 裂解液 GHL（对于 Streck 采血管中的血样，加入 450 μ l），振荡混匀。

注意：当样本数目比较大时，可以把裂解液 **GHL** 和 **Proteinase K** 预先混合，混合后的溶液室温放置不要超过 **1 h**，最好现用现配。

4. 将离心管置于室温（22℃-25℃）裂解 15 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
5. 加入 350 μ l 异丙醇，振荡混匀 10 sec。
6. 加入 15 μ l 磁珠悬浮液 **G**，振荡混匀 1 min，共静置 9 min，每 3 min 振荡混匀 1 min。
注意：为了确保磁珠彻底重悬，请在使用前振荡混匀
7. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
8. 加入 900 μ l 缓冲液 **GDZ**（使用前请确认是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
9. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
10. 加入 500 μ l 缓冲液 **GDZ**（使用前请确认是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
11. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
12. 将离心管从磁力架上取下，加入 900 μ l 漂洗液 **PWD**（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀 2 min。
13. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
14. 将离心管于磁力架上，室温晾干 10-15 min。
注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱 **DNA**。
15. 将离心管从磁力架上取下，加入 50-100 μ l 洗脱缓冲液 **TB**，振荡混匀，置于 56℃，孵育 10 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
16. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，小心将 **DNA** 溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。

B、唾液基因组 DNA 提取

1. 取 250 μ l 唾液样品至 2 ml 离心管中。
2. 加入 10 μ l **Proteinase K** 溶液。
3. 加入 250 μ l 裂解液 **GHL**，振荡混匀。
注意：当样本数目比较大时，可以把裂解液 **GHL** 和 **Proteinase K** 预先混合，混合后的溶液室温放置不要超过 **1 h**，最好现用现配。
4. 将离心管置于室温（22℃-25℃）裂解 15 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
5. 加入 300 μ l 异丙醇，振荡混匀 10 sec。
6. 加入 15 μ l 磁珠悬浮液 **G**，振荡混匀 1 min，共静置 9 min，每 3 min 振荡混匀 1 min。
注意：为了确保磁珠彻底重悬，请在使用前振荡混匀
7. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
8. 加入 900 μ l 缓冲液 **GDZ**（使用前请确认是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
9. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
10. 加入 500 μ l 缓冲液 **GDZ**（使用前请确认是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
11. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
12. 将离心管从磁力架上取下，加入 900 μ l 漂洗液 **PWD**（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀 2 min。
13. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
14. 将离心管于磁力架上，室温晾干 10-15 min。
15. 将离心管从磁力架上取下，加入 50-100 μ l 洗脱缓冲液 **TB**，振荡混匀，置于 56℃，孵育 10 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
16. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，小心将 **DNA** 溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。

C、口腔拭子基因组 DNA 提取

取样方式：使用棉签在面颊内各擦拭 20 次。

注意：为了保证样本不被食物或者饮料污染，取样前 30 min 内请勿进食和饮水。

1. 处理材料：

将在面颊内擦拭过的棉签转置于 2 ml 离心管中，加入 500 μ l 缓冲液 GAS 和 10 μ l Proteinase K 溶液，涡旋 10 sec 混匀，65 $^{\circ}$ C 消化 30 min。

若样品保存在含有裂解成分的口腔拭子保存液中，则不需添加 GAS，加入 10 μ l Proteinase K 后续加热操作。

若样品保存在无裂解成分的口腔拭子保存液中，按照 200 μ l 保存液加入 100 μ l GAS 和 10 μ l Proteinase K 的比例进行消化，然后进行后续操作。

2. 挤出棉签吸附的液体，去除拭子，吸出约 300 μ l 液体。
3. 加入 300 μ l 裂解液 GHL，振荡混匀。
4. 将离心管置于室温（22 $^{\circ}$ C-25 $^{\circ}$ C）裂解 15 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
5. 加入 300 μ l 异丙醇，振荡混匀 10 sec。
6. 加入 15 μ l 磁珠悬浮液 G，振荡混匀 1 min，共静置 9 min，每 3 min 振荡混匀 1 min。
注意：为了确保磁珠彻底重悬，请在使用前振荡混匀。
7. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
8. 加入 900 μ l 缓冲液 GDZ（使用前请确认是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
9. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
10. 加入 500 μ l 缓冲液 GDZ（使用前请确认是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
11. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
12. 将离心管从磁力架上取下，加入 900 μ l 漂洗液 PWD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀 2 min。
13. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
14. 将离心管于磁力架上，室温晾干 10-15 min。
注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱 DNA。
15. 将离心管从磁力架上取下，加入 50-100 μ l 洗脱缓冲液 TB，振荡混匀，置于 56 $^{\circ}$ C，孵育 10 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
16. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，小心将 DNA 溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。

D. 动物组织基因组 DNA 提取

1. 取动物组织 10-50 mg，尽量剪成小块，加入 200 μ l 组织消化液 GAS 和 10 μ l Proteinase K，使用电动匀浆机研磨约 10 s 至组织研磨充分。
 - 1) 对于匀浆充分的样本可以省去 65 $^{\circ}$ C 消化的时间；
 - 2) 对于有肉眼可见组织块的样本，建议 65 $^{\circ}$ C 消化 30 min 至消化完全；
 - 3) 对于鼠尾样本，56 $^{\circ}$ C 消化过夜；

注意：样本消化完成后，如果有组织碎片，建议 12,000 rpm 离心 1 min 去除残留杂质。

注意：如果需要去除 RNA，加入 4 μ l RNase A 室温放置 10 min（TIANGEN, RT405-12, 自备）

- 加入 300 μl 裂解液 GHL，振荡混匀。
- 将离心管置于 75 $^{\circ}\text{C}$ ，孵育 15 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
- 室温放置 5 min。
- 加入 300 μl 异丙醇，振荡混匀 10 sec。
- 加入 15 μl 磁珠悬浮液 G，振荡混匀 1 min，共静置 9 min，每 3 min 振荡混匀 1 min。
注意：为了确保磁珠彻底重悬，请在使用前振荡混匀。
对于口腔拭子和干血斑等基因组 DNA 含量少的样本，建议使用 10 μl 的磁珠；
对于肌肉组织等基因组 DNA 含量中等的样本，建议使用 15 μl 的磁珠；
对于鼠的脾脏等基因组 DNA 含量高的样本，建议使用 20 μl 的磁珠。
- 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
- 加入 900 μl 缓冲液 GDZ（使用前请确认是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
- 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
- 加入 500 μl 缓冲液 GDZ（使用前请确认是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
- 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
- 加入 900 μl 漂洗液 PWD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
- 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
- 将离心管于磁力架上，室温晾干 10-15 min。
注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱 DNA。
- 将离心管从磁力架上取下，加入 50-100 μl 洗脱缓冲液 TB，振荡混匀，置于 56 $^{\circ}\text{C}$ ，孵育 10 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
- 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，小心将 DNA 溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。

【实验方法的局限性】

本试剂盒不能独立使用，需要与磁力架或者相关仪器共同使用。

【产品性能指标】

取各种样本根据说明书提取 DNA，使用分光光度计检测，所提得 DNA OD_{260/280}=1.7-1.9，提取得率不低于 0.5 μg ；经琼脂糖凝胶电泳检测，眼观可见 DNA 条带清晰。

【注意事项】

- 若裂解液 GHL 中有沉淀，可在 37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中重新溶解，摇匀后使用。
- 溶液使用后应将瓶盖拧紧，避免蒸发。
- 本产品适用于手工提取或自动化仪器整合。
- 若溶液与皮肤、粘膜接触，请立即用自来水冲洗，对操作者不会造成伤害风险。

【生产企业】

企业名称：天根生化科技（北京）有限公司

注册及生产地址：北京市海淀区西小口路 66 号 C-7 三层 邮编：100192

【体外诊断试剂生产备案号】京海食药监械生产备 20140007 号

【体外诊断试剂产品备案号】京海械备 20180103 号

【说明书批准及修改日期】2018 年 9 月 20 日