

核酸提取或纯化试剂

磁珠法干血斑基因组 DNA 快速提取试剂盒

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂

【包装规格】

96 人份/盒；96 人份/盒；960 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。

【实验原理】

含有靶核酸的待分离样品经裂解液裂解细胞后，利用磁珠与核酸特异性识别和高效结合的原理，通过洗涤、洗脱等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：

组分名称	96 人份	96 人份	960 人份
缓冲液 GASH (Buffer GASH)	50 ml	50 ml	500 ml
裂解液 GHL (Buffer GHL)	40 ml	40 ml	400 ml
缓冲液 GDZ (Buffer GDZ)	90 ml	90 ml	300 ml×3
漂洗液 PWD (Buffer PWD)	40 ml	40 ml	100 ml×3
蛋白酶 AP (Proteinase AP)	5.5 ml	5.5 ml	55 ml
磁珠悬浮液 G (MagAttract Suspension G)	1 ml	1 ml	1 ml×10
洗脱缓冲液 TB (Buffer TB)	15 ml	15 ml	60 ml×2
S32 96 深孔板 (S32 Deep Well 96 Plate)	无	6 块	无
S32 磁棒套 (S32 Tip Comb)	无	12 套	无

【储运条件及有效期】

试剂置于室温（15~30℃）干燥条件下保存，有效期为 12 个月。

常温运输。

【生产日期】

见外包装标签。

【适用仪器】

需要移液器或高通量核酸提取仪等仪器设备配合使用。

【样本要求】

1. 适用样本类型：滤纸干血斑及法医学样本。
2. 样本采集：按照滤纸干血斑采集方法进行采集。
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）。样本运送时应将滤纸干血斑密封，采用泡沫箱加冰运输。

【操作方法】

北京

电 话：010-59822688
技术支持：010-59822661/2665
邮 箱：people@tiangen.com

传 真：010-59822788
免费咨询：800-990-6057

上海

电 话：021-38653846
传 真：021-64074836
邮 箱：sh@tiangen.com

一、手工提取步骤

使用前请先在缓冲液 **GDZ** 和漂洗液 **PWD** 中加入无水乙醇,加入体积请按照瓶上的标签。

1. 样本处理: 向 1.5 ml 离心管中加入 1-2 片直径为 6 mm 的干血斑样品,加入 350 μ l- 400 μ l 的缓冲液 **GASH** 和 50 μ l 的 **Proteinase AP**。
2. 涡旋震荡 10 sec 混匀后,放入预热至 70 $^{\circ}$ C 的恒温震荡器中, 1 500 rpm 恒温震荡裂解 15 min 以上。
注意: 当样本数目比较大时,可以将缓冲液 **GASH** 和 **Proteinase AP** 按比例预先混合, 现用现配。
3. 12 000 rpm 离心 2 min, 取 300 μ l 上清溶液转移到新的离心管中。
注意: 尽量不要吸到滤纸片, 否则会影响磁珠与核酸结合, 导致得率降低。
4. 加入 10 μ l 磁珠悬浮液 **G**, 300 μ l 裂解液 **GHL** 和 300 μ l 异丙醇, 抽打混匀或振荡混匀 10 min。
注意: 当样本数目比较大时, 可以将磁珠悬浮液 **G**, 裂解液 **GHL** 和异丙醇按比例预先混合并抽打或振荡混匀 20 sec, 混合后每个样本用量为 610 μ l。
5. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min, 待磁珠完全吸附时小心去除液体。
6. 将离心管从磁力架上取下,加入 900 μ l 缓冲液 **GDZ**(使用前请确认是否已加入无水乙醇), 抽打混匀或振荡混匀 2 min。
7. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min, 待磁珠完全吸附时小心去除液体。
8. 将离心管从磁力架上取下, 加入 500 μ l 缓冲液 **GDZ**, 抽打混匀或振荡混匀 2 min。
9. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min, 待磁珠完全吸附时小心去除液体。
10. 将离心管从磁力架上取下, 加入 900 μ l 漂洗液 **PWD** (使用前请确认是否已加入无水乙醇), 抽打混匀或振荡混匀 2 min。
11. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min, 待磁珠完全吸附时小心去除液体。
12. 将离心管从磁力架上取下, 加入 300 μ l 漂洗液 **PWD**, 抽打混匀或振荡混匀 2 min。
13. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min, 待磁珠完全吸附时小心去除液体。
14. 将离心管放置于磁力架上, 室温晾干 10-15 min。
15. 加入 50-100 μ l 洗脱缓冲液 **TB**, 抽打混匀或振荡混匀, 置于 56 $^{\circ}$ C, 孵育 5-10 min。
16. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min, 待磁珠完全吸附时小心将 **DNA** 溶液转移至新的离心管, 并于适当条件保存。

二、TGuide S32 自动核酸提取仪提取步骤

使用前请先在缓冲液 **GDZ** 和漂洗液 **PWD** 中加入无水乙醇, 加入体积请按照瓶上的标签。

1. 样本处理同手工操作步骤。
2. 按照下表在 TGuide S32 板分装试剂

第 1/7 列	第 2/8 列	第 3/9 列	第 4/10 列	第 5/11 列	第 6/12 列
GHL 300 μ l 异丙醇 300 μ l	GDZ 900 μ l	GDZ 500 μ l	PWD 900 μ l	TB 70 μ l	PWD 300 μ l 磁珠 G 10 μ l

3. 在第 1/7 列中分别加入 350 μ l-400 μ l 处理好的样品。
4. 将 96 深孔板放置于 TGuide S32 自动核酸提取仪 96 深孔板底座上, 将磁棒套插入磁棒套架卡槽内并确保卡扣到位。
5. 运行 TGuide S32 核酸提取仪干血斑 **DNA** 提取程序: 打开仪器配套 Windows Pad, 双击 YDP708

Purification 图标进入 TGuide S32 控制程序，点击“运行”，选择“DP708”程序文件并点击右下角“运行”按钮开始实验。

TGuide S32 自动核酸提取程序如下表所示：

裂解加热：ON 裂解温度：35 裂解加热终止步骤：1
 洗脱加热：ON 洗脱温度：45 洗脱加热开始步骤：11

步骤	孔位	名称	等待时间 (mm:ss)	混合时间 (mm:ss)	磁吸时间 (mm:ss)	容积 (μ l)	速度	强力吸 附模式
1	6	Beads	00:00	00:20	00:40	300	快	是
2	1	Bind	00:00	15:00	01:00	900	快	是
3	2	Wash 1.1	00:00	02:00	00:00	100	快	否
4	2	Wash 1.1	00:00	02:00	01:00	900	快	是
5	3	Wash 1.2	00:00	02:00	00:00	100	快	否
6	3	Wash 1.2	00:00	02:00	01:00	500	快	是
7	4	Wash 2.1	00:00	02:00	00:00	100	快	否
8	4	Wash 2.1	00:00	02:00	01:00	900	快	是
9	6	Wash 2.2	00:00	02:00	00:00	100	快	否
10	6	Wash 2.2	00:00	02:00	01:00	290	快	是
11	5	Elute	05:00	08:00	01:30	70	快	是
12	6	Leave	00:00	01:00	00:00	290	快	是

6. 自动化提取程序结束后，小心将 96 深孔板第 5 列和第 11 列中的 DNA 产物吸出，转移至干净的离心管，继续后续实验或保存于 -20 °C。

三、磁棒法自动化仪器提取步骤（以 Thermo Kingfisher Flex 为例）

使用前请先在缓冲液 GDZ 和漂洗液 PWD 中加入无水乙醇，加入体积请按照瓶上的标签。样本处理同手工操作步骤。

1. 按照下表分装溶液至 Kingfisher 96 深孔板中。在含有裂解液 GHL 的深孔板中加入 300 μ l 处理好的干血斑样品溶液。磁棒套放入含磁珠的板中。依次 6 块深孔板按照程序提示放入提取仪中。

试剂	使用体积
样品/ 裂解液 GHL/ 异丙醇	300 μ l/ 300 μ l/ 300 μ l
缓冲液 GDZ-1	900 μ l
缓冲液 GDZ-2	500 μ l

漂洗液 PWD-1	900 μ l
漂洗液 PWD-2/磁珠悬浮液 G	300 μ l/ 10 μ l/ 磁棒套
洗脱缓冲液 TB	70 μ l

- 程序开始后, 到漂洗液 PWD-2 深孔板上去抓取磁力套, 转移到含样品的裂解液 GHL 深孔板中速拍打混匀 15 min。吸附磁珠 3 次, 每次 5 sec。
- 将磁棒套和磁棒套吸附的磁珠转移到缓冲液 GDZ-1 深孔板板上, 中速拍打混匀 3 min, 吸附磁珠 3 次, 每次 5 sec。
- 将磁棒套和磁棒套吸附的磁珠转移到缓冲液 GDZ-2 深孔板板上, 快速拍打混匀 3 min, 吸附磁珠 3 次, 每次 5 sec。
- 将磁棒套和磁棒套吸附的磁珠转移到漂洗液 PWD-1 深孔板板上, 中速拍打混匀 3 min, 吸附磁珠 3 次, 每次 5 sec。
- 将磁棒套和磁棒套吸附的磁珠转移到漂洗液 PWD-2 深孔板板上, 快速拍打混匀 3 min, 吸附磁珠 3 次, 每次 5 sec。
- 将磁棒套和磁棒套吸附的磁珠在含有漂洗液 PWD-2 的深孔板上悬空晾干 5 min。
- 将磁棒套吸附的磁珠转移到含有洗脱缓冲液 TB 的深孔板中, 释放磁珠, 置于 75°C, 拍打混匀 10 min。然后吸附磁珠 5 次, 每次 20 sec。
- 将磁棒套和磁棒套吸附的磁珠转移到含有漂洗液 PWD-2 的深孔板中。
- 程序结束后, 小心将 DNA 溶液转移至收集板, 并于适当条件保存。

【检验方法的局限性】

本试剂盒不能独立使用, 需要与磁力架, 核酸提取仪等共同使用。

【产品性能指标】

样本为 2 片每片直径为 6 mm 干血片, 提取 DNA 得率为 10-15 ng/ μ l, OD_{260/280} > 1.7, 电泳条带单一明亮。

【注意事项】

- 若缓冲液 GASH 或裂解液 GHL 中有沉淀, 可在 37°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。
- 所有离心步骤均在室温下离心。
- 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。

【生产及售后服务企业】

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

电话: 010-59822688

E-mail: people@tiangen.com

【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 20180055 号

【说明书批准及修改日期】2018 年 10 月 23 日