

磁珠法全血/细胞/组织基因组DNA提取试剂盒

目录号

BN28220-100T

BN28220-500T

产品组成

组分	规格100T	规格500T
裂解液	65 mL	325 mL
洗涤液 I	2×90 mL	2×450 mL
洗涤液 II	90 mL	450 mL
洗涤液 III & 磁珠	90 mL	450 mL
洗脱液	20 mL	60 mL
蛋白酶K	2×2.0 mL	10×2.0 mL
组织前处理液	25 mL	125 mL

保存条件

蛋白酶K保存于-20℃，其余组分常温（15-30℃）保存12个月。

产品简介

本试剂盒是基于生物纳米磁珠的核酸提取试剂盒，主要原理是利用功能性生物磁珠表面的功能基团，将核酸从样品裂解产物中富集至磁珠表面，再利用磁性分离装置对磁珠进行分离，从而快速分离纯化核酸。适用于从全血、血卡、唾液、口腔拭子、细胞以及组织等样本中提取DNA，整个过程不需用到酚、氯仿等有机试剂，安全无毒，并且利用具有顺磁性的生物纳米磁珠，适合高通量自动化提取。

适用范围

适用于从全血、血卡、唾液、口腔拭子、细胞以及组织等样本中提取DNA

注意事项

1. 各组分如果有沉淀，可在65℃水浴锅或者烘箱中重新溶解，摇匀后使用。

2. 对于组织样本如果加入RNase A混合2min还有RNA残留可以将混合时间延长至10min。
3. 装有磁珠的试剂瓶使用前一定要充分摇匀。
4. 血液样本提取，需要将血液恢复至室温后进行试验。
5. 接触试剂的材料均要求干燥、洁净，以防止污染。

使用方法

1. 样本前处理：

a. 全血、唾液、口腔拭子样本

- 1) 血液样本：将新鲜抗凝血上下颠倒混匀，常规样本建议取100-300 μL 进行提取；老鼠血液建议取50-100 μL 进行提取；骨髓血建议取100-200 μL 进行提取。
- 2) 血卡样本：取1-5片，直径为6mm的血卡样本，加入300 μL 的组织前处理液，再加40 μL 蛋白酶K，65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育45 min，孵育结束后，12000 rpm离心2 min，转移上清进行实验。
- 3) 唾液/血细胞样本：将样本上下颠倒混匀，建议取100-300 μL 进行提取。
- 4) 口腔拭子：将保存于保护液中的口腔拭子充分振荡混匀，建议取 300 μL 保护液进行提取；若为干拭子，将口腔干拭子转移到 1.5 mL 的离心管中，加入 500 μL 的组织前处理液，再加 40 μL 蛋白酶 K，65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min，孵育结束后，12000 rpm 离心 2 min，转移上清 300 μL 进行实验。

b. 细胞/组织样本

- 1) 羊水样本：取3-5 mL样本至5 mL离心管中，4000rpm离心5min，去除上清，加入200 μL 组织前处理液，用移液器吹打混匀。
 - 2) 组织样本：小鼠（心、肝、肺、肾、脑）推荐上样量为10 mg，脾为5 mg。鱼卵、鱼肉、和猪耳朵推荐上样量20 mg，组织适当剪碎后，置于1.5 mL离心管中，向离心管中加入200 μL 组织前处理液，40 μL 的蛋白酶K和一颗3mm氧化锆珠，再用组织破碎仪破碎（推荐参数：60Hz、运行45s，研磨3次）；破碎完成后将离心管置于振荡混匀仪上，65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育30min，猪耳需延长时间到60min，直至组织块完全溶解后，12000 rpm离心2 min，转移上清进行实验。
 - 3) 细胞：准备体积不超过200 μL ，总量不超过 5×10^6 个的细胞悬液（超过200 μL 体积的，需要4000 rpm离心5 min进行富集，贴壁细胞还需要先用胰酶进行脱壁，再按照悬浮细胞富集处理）。
 - 4) 鼠尾组织（快速）：取鼠尾样本（大鼠0.3 cm，小鼠0.6 cm，适当剪短以保证能与前处理液充分接触），再加入200 μL 组织前处理液和40 μL 蛋白酶K(20 mg/mL)；放入60 $^{\circ}\text{C}$ 的摇床中，200rpm振荡混匀3小时。
 - 5) 鼠尾组织（常规）：取适量鼠尾样本（大鼠 0.3 cm，小鼠 0.6 cm）置于1.5 mL 离心管中，向离心管中加入 200 μL 组织前处理液和40 μL 蛋白酶 K(20 mg/mL)，按照组织样本进行研磨后65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育 30min 或者不用研磨直接 56 $^{\circ}\text{C}$ 过夜孵育处理，孵育后 12000rpm 离心 2min，取上清液进行后续操作。
2. 取800 μL 洗涤液III&磁珠至1.5 mL离心管中(注意：为了确保磁珠彻底重悬，请充分振荡混匀后立即吸取)，置于磁力架上静置1 min后将全部上清吸出，洗涤液III和磁珠保存待用。

3. 将处理好的样本转移至步骤2中待用的磁珠中，再加入600 μL 的裂解液，对于全血/唾液/口腔拭子/羊水/细胞样本还需添加40 μL 蛋白酶K(20 mg/mL)，振荡混匀，置于55 $^{\circ}\text{C}$ 裂解10 min（期间颠倒混匀数次）。
4. 将离心管置于磁力架上，静置1 min，期间反复颠倒磁力架5-6次，使可能残存在管盖上的磁珠被磁力架吸附住，小心用移液器吸去管盖和管中的液体。
5. 取下离心管，加入800 μL 洗涤液 I，将离心管振荡混匀4 min（注意：组织和骨髓血样本需延长至 6min）后再置于磁力架上，静置1 min，期间反复颠倒磁力架5-6次，磁珠完全吸附后，小心用移液器吸去管盖和管中液体。
6. 重复步骤5一次。
7. 加入800 μL 洗涤液 II，如需要去除RNA，部分样本还需要加入适量的RNase A（对于老鼠血液样本，如需要去除RNA，还需加入10 μL RNase A（10mg/mL）；对于骨髓血样本，如需要去除RNA，还需要加入20 μL RNase A（10mg/mL）。），将离心管涡旋振荡混匀2 min（注意：组织和骨髓血样本需延长至 4min）后，再置于磁力架上，静置1 min，期间反复颠倒磁力架5-6次，磁珠完全吸附后，小心用移液器吸去管盖和管中液体。

注意：骨髓血样本还需加入400 μL 增强剂。

8. 加入800 μL 步骤2中待用的洗涤液 III 将离心管振荡混匀2 min后，再置于磁力架上，静置1 min，期间反复颠倒磁力架5-6次，磁珠完全吸附后，小心用移液器吸去管盖和管中液体。
9. 打开管盖，室温干燥2 min至乙醇挥发完全(乙醇残留和过分子干燥均会影响下一步核酸洗脱效率)。
10. 取下离心管，加入100 μL 洗脱液，振荡混匀使磁珠完全浸没在洗脱液中，再置于65 $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min，期间振荡混匀3次。
11. 孵育结束后，将离心管置于磁力架上，静置1 min,待磁珠完全吸附后，小心用移液器将液体转移至新的干净的离心管中(切勿将磁珠吸出)，所得溶液即为核酸样品，置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。