

组织DNA抽提试剂盒（磁珠法）使用说明书

【货号】A2010A111

【规格】50T

【产品说明】版本：2021版 -01

BioTNT 磁珠法DNA 抽提试剂盒采用国际领先的磁珠法对样本进行抽提，可用于手工抽提DNA，经优化，也可用于多款全自动的DNA磁珠法抽提仪器。

本试剂盒采用先进的磁珠法进行快速提取、纯化DNA(包括基因组DNA，线粒体DNA，微生物,病毒DNA),样品经简单预处理后直接提取，以供后续分子检测的应用（PCR, 酶切, 甲基化/亚硫酸盐处理, 测序, 基因分型等等）；可用于人，大鼠，小鼠等各种动物的各类样本中的DNA 抽提；

优势：1. 操作快速，简便，容易掌握； 整个实验在30min 内完成；

2、DNA 直接可用；提取产物纯度高，片段完整；基因组片段长达40 kb及以上；

3、完全去除污染和抑制物；

【实验原理】

组织样本在加入DNA裂解液匀浆后，再和蛋白酶混合液后，裂解，释放出核酸，蛋白被蛋白酶K 消化，加入异丙醇中的特异性磁珠，DNA 被特异性吸附到磁珠上；通过三步洗涤，磁珠被清洗干净；用100u1洗脱液洗脱，得到纯净的DNA。其他类型样本直接进行裂解，并在蛋白酶K 消化的情况下，加入异丙醇中的特异性磁珠，DNA 被特异性吸附到磁珠上；通过三步洗涤，磁珠被清洗干净；用100u1洗脱液洗脱，得到纯净的DNA。

【试剂盒组成】：

试剂名称	规格
[组织研磨液/细胞处理液]	10 mL × 1瓶, 5ml × 1瓶
[裂解液]	20 mL × 1瓶
[蛋白酶混合液]	1mL × 1支
[洗涤液A]	45mL × 1瓶
[洗涤液B]	45 mL × 2瓶
[洗脱液]	5mL × 1瓶
[磁珠悬液]	750μL × 1支

【储存条件】：蛋白酶混合液2-8℃保存，其余试剂室温（15-25℃）保存，有效期一年。

【需要使用但未提供的试剂】：

无水乙醇，异丙醇；

【实验设备】： 漩涡振荡器，离心机或磁力架；

【样本要求】

核酸保存液（2-8℃保存）、液氮速冻（-70℃保存）等可有效防止核酸降解的形式保存新鲜组织样本，避免反复冻融。

【储存条件】：蛋白酶混合液及磁珠悬液2-8℃保存，其余试剂室温（15-25℃）保存，有效期一年。

【实验设备】： 核酸提取仪（自动提取）操作略，漩涡振荡器，离心机或磁力架；

【样本预处理】

称取10-30mg组织样本，放置于250-300μL组织研磨液中，玻璃匀浆器或自动匀浆器充分研磨至组织研磨液澄清、无可见组织碎片，匀浆液待用。

1. 将试剂盒中各组分完全平衡至室温后方可使用；裂解液必须完全溶解为均一液体，如果出现浑浊或者沉淀，请将其置于56℃孵育直至澄清。

所有样本处理后进入下面步骤：

如果有磁力架，请选择磁力架操作模式Part A；如果您没有配备磁力架，也可以选择离心机的操作模式。本试剂也可以在全自动核酸提取仪上进行操作。

Part A 使用磁力架按照以下进行操作：

1. 1.5mL离心管中，依次加入400μL裂解液、200μL预处理好的组织匀浆液样本、20μL蛋白酶混合液，立即高速漩涡震荡10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次），60℃孵育20分钟，期间每隔1分钟上下颠倒离心管10次，始终使管内磁珠分布均匀。加入350μL异丙醇和15μL磁珠悬液，室温放置10分钟，期间每隔1分钟上下颠倒离心管10次，始终使管内磁珠分布均匀。

2. 将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，静置30s至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。

3. 移去磁力架，加入900μL洗涤液A，低速漩涡震荡10s至其分布均匀后，上下颠倒离心管10-15次充分洗涤。将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，静置30s至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。

4. 移去磁力架，加入600μL洗涤液B工作液，低速漩涡震荡10s至其分布均匀后，上下颠倒离心管10-15次充分洗涤，瞬时低速离心，用移液器吹散磁珠后将液体带磁珠全部转移入一干净的

1.5mL离心管内。将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，静置30s至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，**注意不能将磁珠吸出。**

5. 移去磁力架，加入600 μ L洗涤液B工作液，低速旋涡震荡10s至其分布均匀后，上下颠倒离心管10-15次充分洗涤。将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，静置30s至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，**注意不能将磁珠吸出。**

6. 移去磁力架，加入600 μ L洗涤液B工作液，低速旋涡震荡10s至其分布均匀后，上下颠倒离心管10-15次充分洗涤。瞬时低速离心，将离心管置于磁力架上，静置直至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内液体。**特别注意：务必吸尽离心管内残留液体，可以多次吸取液体，但不能将磁珠吸出。**

7. 打开管盖，于室温干燥2-3分钟，至磁珠表面无明显液体。将洗脱液放置于80 $^{\circ}$ C预热（2-3分钟）。

8. 移去磁力架，加入50-100 μ L预热好的洗脱液，用枪头吹吸至磁珠分布均匀或高速涡旋10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次）。80 $^{\circ}$ C温育10分钟，期间每隔1分钟左右**摇晃**离心管10-15次（切勿颠倒），使管内磁珠始终保持均匀分布的状态。温育结束后，将离心管高速涡旋10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次）。

9. 将离心管置于磁力架上，静置1分钟后，吸取上清到一个无核酶干净的离心管中，此即为纯化后的DNA溶液。可短期保存于-20 $^{\circ}$ C，长期保存于-70 $^{\circ}$ C。

PArt B 无磁力架请按照下面进行操作：

1. 1.5mL离心管中，依次加入400 μ L裂解液、200 μ L预处理好的组织匀浆液样本、20 μ L蛋白酶混合液，立即高速旋涡震荡10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次），60 $^{\circ}$ C孵育20分钟，期间每隔1分钟上下颠倒离心管10次，始终使管内磁珠分布均匀。加入350 μ L异丙醇和15 μ L磁珠悬液，室温放置10分钟，期间每隔1分钟上下颠倒离心管10次，始终使管内磁珠分布均匀。

2. 离心机操作方式：8000 rpm离心1min，弃上清。

3. 加入900 μ l洗涤液A，用力摇晃离心管10次，直至管内磁珠分布均匀；8000 rpm离心30s-1min，弃上清。
4. 加入600 μ l洗涤液B，用力摇晃离心管10次，直至管内磁珠分布均匀；8000 rpm离心30s-1min，弃上清。
5. 加入600 μ l洗涤液B，用力摇晃离心管10次，直至管内磁珠分布均匀；8000 rpm离心30s-1min，弃上清。
6. 加入600 μ l洗涤液B，用力摇晃离心管10次，直至管内磁珠分布均匀；8000 rpm离心30s-1min，弃上清。
7. 打开管盖，于室温干燥2-3分钟，至磁珠表面无明显液体。将洗脱液放置于80 $^{\circ}$ C预热(2-3分钟)。
8. 离心管中加入50-100 μ L预热好的洗脱液，用枪头吹吸至磁珠分布均匀或高速涡旋10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次）。80 $^{\circ}$ C温育6分钟，期间每隔1分钟左右摇晃离心管10-15次（切勿颠倒），使管内磁珠始终保持均匀分布的状态。温育结束后，将离心管高速涡旋10-15次（溶液完全涡旋震荡、磁珠分布均匀算作一次）。也可以用更少的量进行洗脱。
9. 将离心管置于磁力架上，静置1分钟后，吸取上清到一个无核酶干净的离心管中，此即为纯化后的DNA溶液。可短期保存于-20 $^{\circ}$ C，长期保存于-70 $^{\circ}$ C。

【注意事项】

- 1) 说明书中所有黑体字部分都非常重要，不能省略。
- 2) 裂解液必须完全溶解为均一液体，如果出现浑浊或者沉淀，请将其置于37 $^{\circ}$ C孵育直至澄清。
- 3) 样本若以冻存方式保存，避免反复冻融，否则导致提取的核酸片段不完整、且提取量下降。
- 4) 所有吸取上清或倾倒的操作建议采用吸取上清的方式，同时注意不能将磁珠吸出。
- 5) 每次洗涤都须将磁珠打散，可低速旋涡震荡或者用移液器轻缓吸打，以保证得到的核酸纯度

及片段的完整性。

6) 洗脱结束后的吸磁须充分，避免磁珠残留。

7) 手工提取步骤1和步骤8，可将离心管放置于恒温杂交仪中加热并持续保持混匀，使磁珠均匀分散。

8) 本试剂盒涉及的检测样本应视为具有传染性物质，操作和处理均需符合卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》相关要求。

【参考值范围】

对于不同的组织样本，得到的 DNA 产量和纯度会有差异，通常 10-30mg 小鼠肝脏、肾脏组织样本，DNA 产量 10 μ g 以上；OD260/280: 1.8 左右，OD260/230: 1.8 以上。

【注意事项】

1) 说明书中所有黑体字部分都非常重要，不能省略。

2) 裂解液必须完全溶解为均一液体，如出现浑浊或者沉淀，请将其置于37 $^{\circ}$ C孵育直至澄清。

3) **磁珠悬液室温保存，切勿冷冻。**使用前混匀，建议每加8个样本充分混匀一次。

4) 样本若以冻存方式保存，避免反复冻融，否则导致提取核酸片段不完整、且提取量下降。

5) 所有弃上清的操作**建议采用吸取上清的方式，同时注意不能将磁珠吸出。**

6) **每次洗涤都须将磁珠打散，可低速旋涡震荡或者用移液器轻缓吸打，以保证得到的DNA纯度及片段的完整性。**

7) 洗脱结束后的吸磁须充分，避免磁珠残留。

8) 手工提取步骤1和步骤8，可将离心管放置于恒温杂交仪中加热并持续保持混匀，使磁珠均匀分散。

9) 本试剂盒涉及的检测样本应视为具有传染性物质，操作和处理均需符合卫生部《微生物生物医学实验室生物安全通用准则》和《医疗废物管理条例》相关要求。

品质保证：所有产品由 BioTNT 进行品质保证。如果客户使用中有任何问题，都可以联系 BioTNT 公司。