

通用型 DNA 提取试剂盒（磁珠法）



产品名称

通用型 DNA 提取试剂盒（磁珠法）

货号与规格

货号：DU3032-LM 规格：32 次/盒

产品组分

组分	32 次
裂解液 1	9.6 mL
结合液 2	16 mL
洗涤液 3	22.4 mL
洗涤液 4	22.4 mL
洗涤液 5	44.8 mL
洗脱液 6	3.2 mL
磁珠悬浮液	640 μ L
蛋白酶 K	960 μ L

保存条件

4°C~30°C避光保存，有效期 12 个月。

适用仪器

手提

样本要求

1. 适用标本类型：血液、组织、细胞、干血斑、各种拭子等。
2. 样本处理与保存：新鲜样本应尽快处理或-80°C冻存，避免反复冻融。
3. 样本运输：应采用冰壶或者泡沫箱加冰或干冰密封运输。

实验流程

一、样本前处理

1. 血液样本

(1) 取 200 μL 全血样本至离心管中, 加入 300 μL 裂解液 1 和 20 μL 蛋白酶 K, 涡旋混匀, 65°C 震荡 (900~1,200 rpm) 孵育 10 min。

2. 培养细胞($\leq 5 \times 10^6$ 个), 脱落细胞

(1) 取适量的液体样本至离心管中, 2,000 $\times g$ 离心 10 min 收集细胞, 去除上清后, 加入 300 μL 裂解液 1, 和 5~10 μL RNA 酶 (可选, 自备), 涡旋重悬细胞。

(2) 加入 20 μL 蛋白酶 K, 涡旋混匀。

(3) 65°C 震荡 (900~1,200 rpm) 孵育 15~30 min。

3. 动物组织 (5~10 mg)

(1) 取 5~10 mg 动物组织, 在研钵中加入液氮充分碾磨。

(2) 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有 300 μL 裂解液 1 和 20 μL 蛋白酶 K 的离心管中。

注: 如使用组织研磨仪钢珠研磨, 可在研磨后将 300 μL 裂解液 1 和 20 μL 蛋白酶 K 加入到研磨管中。

(3) 在 65°C 下, 震荡 (900~1,200 rpm) 孵育 10 min。

注: 如果需要去除 RNA, 加入 5~10 μL RNA 酶, 室温放置 10 min。

注: 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, 将上清转移到另一个离心管中。

4. 干血斑或者干拭子

(1) 转移 3~10 个 3 mm 直径的血片或干拭子至 2.0 mL 的离心管中。

注: 如采用的是保存液保存拭子, 请保持拭子在保存液中 30 min 以上, 颠倒混匀 5~10 次。

(2) 向其中加入 300~500 μL 的裂解液 1 (淹没样本即可), 涡旋混匀 20~30 s, 在同一管中加入 20 μL 蛋白酶 K, 涡旋 60 s 混匀。

(3) 65°C 震荡 (900~1,200 rpm) 孵育 30 min (血片孵育 40 min)。

(4) 样本消化完成后, 瞬离, 将上清转移到另一个离心管中。

5. 细菌样本

(1) 取待提取样本 1.5 mL 转移至 2.0 mL 离心管中, 12,000 rpm (~13,400 g) 离心 1 min, 去除上清。

(2) 向菌体沉淀中加入 200 μL 超纯水, 振荡重悬。

(3) 向重悬后的菌液中加入 300 μL 裂解液和 20 μL 蛋白酶 K, 55°C 温浴 10 min 进行裂解。

(4) 裂解结束后 12,000 rpm (~13,400 g) 离心 3 min。

6. FFPE

- (1) 切取 10 μm 厚的石蜡组织切片 4~10 张至 1.5 mL 离心管中。
- (2) 加入 1000 μL 脱蜡液 (选配), 高速涡旋震荡 20 秒。使用离心机短暂离心, 让样本浸泡到缓冲液中。
- (3) 55°C 温浴 5 分钟, 高速涡旋 20 秒左右。
- (4) 13,000 $\times g$ 室温离心 2 分钟, 彻底吸弃上清液, 不要吸到沉淀。
- (5) 加入 1 mL 无水乙醇, 涡旋混匀 10 秒, 13,000 $\times g$ 离心 2 分钟, 彻底吸弃上清液, 不要吸到沉淀, 开盖室温晾干 5~10 分钟使乙醇充分挥发。
- (6) 往沉淀中加入 20 μL 蛋白酶 K、200 μL 裂解液 1, 高速涡旋混匀 20~30 秒, 55°C 振荡温浴 60 分钟, 如恒温仪无振荡功能, 可每 15 分钟涡旋一次促进样本消化, 每次 10~30 秒 (可选: 加入 10 μL 的 RNA 酶 (10 mg/mL)) 。
- (7) 90°C 温浴 60 分钟。如有未消化完的样本, 可用掌上离心机瞬时离心 30 秒。

7. 唾液与湿拭子

- (1) 取一根医用拭子或消毒棉签, 深入口腔, 紧靠脸颊内侧来回刮拭 20 次, 需充分接触口腔粘膜。
- (2) 将拭子头折断在样本管中, 马上加入拭子保存液 (或者裂解液), 原则上以淹没拭子为准, 一般 1 mL 拭子保存液可以保存 1~3 根拭子。如果样本为唾液则直接加入等体积的拭子保存液 (或者裂解液) 进行下一步。
- (3) 盖紧盖子, 颠倒混匀数次, 加有保存液的样品可在室温较长时间的保存, -20°C 长期保存。
- (4) 如采用的是保存液保存拭子, 请保持拭子在保存液中 30 min 以上, 颠倒混匀 5~10 次, 然后加入 300 μL 裂解液 1 (唾液: 吸取 500 μL 样本加入装有 500 μL 裂解液 1 的新样本管中), 涡旋混匀 20~30 s, 在同一管中加入 30 μL 蛋白酶 K, 涡旋 60 s 混匀。
- (5) 将样品管放置在预热至 56°C 的恒温振荡器上, 1200 rpm 震荡 30 min, 结束后瞬时离心。

8. 指甲

- (1) 将指甲 (趾甲) 剪成 1 $\times$ 1 mm 左右的小片段 (样本量 $\leq$ 50 mg), 全部转移至 1.5 mL 离心管 (自备) 中, 加入 300 μL 裂解液 1 和 20 μL 蛋白酶 K, 浸没样本, 充分涡旋混匀或摇晃混匀。
- (2) 将离心管置于 65°C, 震荡 (900~1,200 rpm) 孵育 2 h。
- (3) 待 2 h 消化完毕后, 12,000 rpm 离心 3 min, 使管盖以及管壁上的液体离心至管底, 待用。

9. 毛发

- (1) 取 1~3 根毛发剪成 2 mm 左右的小片段, 全部转移至 1.5 mL 离心管 (自备) 中, 加入 300 μL 裂解液 1 和 20 μL 蛋白酶 K, 浸没样本, 充分涡旋混匀或摇晃混匀。
- (2) 将离心管置于 65°C, 震荡 (900~1,200 rpm) 孵育 2 h。

(3) 待 2 h 消化完毕后，12,000 rpm 离心 3 min，使管盖以及管壁上的液体离心至管底，待用。

二、手动提取步骤

1. 转移 300 μL 上清（唾液样本取 500 μL ，血液可取全部）到新离心管中，加入 500 μL 结合液 2 和 20 μL 磁珠，在室温下，震荡孵育 10 min。
2. 孵育后，将离心管放置于磁力架上静置 30 s，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
3. 将离心管从磁力架上取下，加入 700 μL 洗涤液 3，振荡混匀 2 min。
4. 将离心管放置于磁力架上静置 30 s，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
5. 将离心管从磁力架上取下，加入 700 μL 洗涤液 4，振荡混匀 2 min。
6. 将离心管放置于磁力架上静置 30 s，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
7. 将离心管从磁力架上取下，加入 700 μL 洗涤液 5，振荡混匀 2 min。
8. 将离心管放置于磁力架上静置 30 s，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
9. 重复步骤 7 和 8 一次。
10. 将离心管于磁力架上，室温晾干 2~3 min。

注：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。

11. 将离心管从磁力架上取下，加入 100 μL 洗脱液（样本为血卡时，洗脱液加 30~50 μL ），55°C 下振荡孵育 10 min。
12. 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。

仅供研究使用，不适用于临床诊断

基本信息

生产企业名称：蓝景科信河北生物科技有限公司
生产企业住所：河北省保定市徐水区徐水经济开发区法治街 1 号云致科技谷 B10 栋
联系方式：0312-5031216
售后服务单位名称：蓝景科信河北生物科技有限公司
生产地址：河北省保定市徐水区徐水经济开发区法治街 1 号云致科技谷 B10 栋

说明书核准及修改日期

核准日期 2024 年 08 月 12 日