

游离 DNA 提取试剂盒（磁珠法）使用说明书

【预期用途】

游离 DNA 提取试剂盒（磁珠法）用于从小于 5mL 的人或动物血浆（血清）或体液（包括滑膜液、脑脊液、胸水、腹水和尿液等）中分离纯化出高质量、高浓度的游离 DNA。

【检验原理】

裂解吸附液和蛋白酶 K 使游离 DNA 与蛋白质分离，在裂解吸附液高盐低 pH 的环境下，磁珠表面的硅胶高效吸附分离的 DNA；洗涤磁珠，去除蛋白、盐等杂质；在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶释放吸附的游离 DNA，从而达到快速分离纯化游离 DNA 的目的。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	10T	20T
MDT-CFD02	裂解吸附液 N50	100mL×1 瓶	100mL×2 瓶
	蛋白酶 K	2.5mL×1 瓶	5mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	6mL×1 瓶	12mL×1 瓶
	AW2 缓冲液	3mL×1 瓶	6mL×1 瓶
	磁珠	0.5mL×1 支	1mL×1 支
	洗脱液 B	1.5mL×1 支	3mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份

蛋白酶 K： 常温（10-30℃）运输，-20℃保存；

磁珠： 常温（10-30℃）运输，2-8℃保存；

其他试剂： 常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
2. 提前配制 AW2， AW2 中乙醇含量低于 80%会影响提取效果。
3. 提前配制裂解吸附液 A
4. 磁珠使用前必须充分混匀，磁珠不均匀容易导致磁珠吸取量不准确，从而影响提取效率。
5. 洗脱液使用量太少会影响提取效果。
6. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
7. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
8. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

- ①血浆或血清：随机抽取全血，分离血清；用 EDTA 抗凝的全血分离血浆。滑膜液、脑脊液、胸水和腹水等样本根据需要用 EDTA 抗凝。
- ②样本尽快检测，超过 2 小时使用时需要保存于 2-8°C，保存时间不超过 72 小时。长期使用的样本需-80°C或液氮保存，或者使用保存液按要求保存。
- ③溶血和脂血对提取无影响。

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 16,000 \times g$ ）、振荡仪、50mL 磁力架、恒温振荡水浴槽、1.5mL 离心管、无水乙醇和异丙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **AW2 配制：**AW2 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 80%，混匀后密封常温保存。
- **裂解吸附液 A 配制：**使用前按标本数吸取相应体积的裂解吸附液，每 1mL 裂解吸附液 N50 中加入 25 μ L 蛋白酶 K，配成裂解吸附液 A。

【标准操作步骤】

1. **血浆（血清或体液）样本的制备：**取新鲜 EDTA 抗凝血（已析出血清的不抗凝血或体液），1,900 $\times g$ 离心 10 分钟，吸取上清；上清 16,000 $\times g$ 离心 10 分钟，再次吸取上清。短期使用，4°C 保存；长期使用，-70°C 保存。

2. 根据样本体积按下表选择合适的离心管，依次加入制备好的样本和 2 倍体积的裂解吸附液 A，3000rpm 振荡混匀 15 秒。60°C1500rpm 振荡孵育 15 分钟。

样本体积 (mL)	耗材规格	裂解吸附液 A 加入 体积 (mL)	应加入的异丙醇 体积 (mL)	应加入的磁珠体 积 (μ L)
1	5mL 离心管	2	0.45	20
2	15mL 离心管	4	0.9	20
3		6	1.35	30
4		8	1.8	40
5	50mL 离心管	10	2.25	50

3. 取出离心管，根据样本体积按上表加入相应体积的异丙醇和混匀的磁珠，3000rpm 振荡 15 秒。室温静置 10 分钟，于静置的 3 分钟和 6 分钟时，3000rpm 振荡 2 次，每次 15 秒。

➤磁珠使用前必须充分混匀。

➤样本用量小于 1mL 时，磁珠的最少用量为 10 μ L。

4. 将离心管放于 50mL 磁力架上，吸附磁珠至液体清澈。

▶吸附磁珠务必至液体清澈（一般吸附时间为 10-15 分钟）。..

5. 在 50mL 磁力架上，开盖，吸弃液体，保留磁珠。

6. 取出离心管，在离心管中加入 1mL RAW1，充分混匀磁珠（使磁珠完全分散至洗液中），转移磁珠至 1.5mL 离心管中，闭盖。

7. 将 1.5mL 离心管放在 2mL 磁力架上，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸弃液体，保留磁珠（需吸干管底和管盖中的残留液体）。

▶吸附磁珠务必至液体清澈。..

8. 加入 600μL AW2，闭盖。从 2mL 磁力架上取下离心管，充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

9. 将离心管放回 2mL 磁力架，吸附磁珠至液体清澈（吸附磁珠过程中颠倒磁力架数次，使离心管盖上残留的磁珠被充分回收）。开盖，吸弃液体，保留磁珠（需吸干管底和管盖中的残留液体）。

▶吸附磁珠务必至液体清澈。..

10. 加入 600μL AW2。从磁力架上取下离心管，用移液器吹打混匀，使磁珠完全分散在 AW2 中。转移 AW2 中的磁珠至新的 1.5mL 离心管中。

▶务必将 AW2 中的磁珠转移至新的 1.5mL 离心管中，否则易导致离子残留较多。..

11. 将新的离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

▶吸附磁珠务必至液体清澈。..

12. 将离心管放入离心机，闭盖瞬时离心 5 秒。

13. 将离心管放回 2mL 磁力架，吸附磁珠 30 秒，开盖，吸弃残留液体。

14. 将离心管放入金属浴，开盖，50℃烘干 2 分钟。闭盖，取出离心管。

▶样本较多时，取出离心管后必须闭盖，以防磁珠过度干燥，影响洗脱效果。..

15. 在离心管中加入 50μL 洗脱液 B，充分吹打混匀磁珠。闭盖，室温 1,500rpm 振荡 3 分钟。

▶洗脱液 B 的量可以根据需要调整，洗脱液必须完全覆盖磁珠。..

16. 将离心管放入磁力架上，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸取洗脱液转移至新的离心管中。洗脱液即可直接用于 PCR 反应，也可-20℃保存备用。

►为了避免洗脱液中微量磁珠残留，洗脱液转移至新的离心管后，可以 12,000×g 离心 1 分钟，以彻底去除磁珠。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 25 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：www.wuxi-medtech.com

联系电话：173 1562 0564（微信同号）；

138 6175 7779（微信同号）