

## 磁珠法全血基因组 DNA 提取试剂盒说明书

### 【产品名称】

通用名称：磁珠法全血基因组 DNA 提取试剂盒

### 【包装规格】

100T/盒（货号：NG-MB0074-100T）； 300T/盒（货号：NG-MB0074-300T）

### 【预期用途】

该产品适用于提取 0.1-0.3mL 全血中的基因组 DNA，其处理后的产物用于临床体外检测使用。

### 【检测原理】

DNA 在高盐条件下结合于硅基包被的 Magbeads 表面，经过多次清洗，去除杂蛋白等，低盐条件下洗脱，得到高纯度的基因组 DNA。

### 【主要组成成分】

组分	NG-MB0074-100T	NG-MB0074-300T
结合液	60mL	180mL
清洗液	124mL	372mL
洗脱液	12mL	35mL
磁珠悬液	1.05mL*2	6.2mL
蛋白酶 K	1.05mL*2	6.2mL

### 【储存条件及有效期】

磁珠悬液 2-8℃保存，蛋白酶 K 于 4℃以下保存，其余试剂常温保存，有效期皆为一年；

可在 4-37℃运输，运输时间不超过 14 天。

### 【自备器材和试剂】

- 器材：核酸提取仪（我司有不同通道核酸提取仪可选，可联系）、2.2mL96 深孔板（U 底）、磁棒套、离心管、磁力架、涡旋振荡器、移液器、恒温振荡器等；
- 试剂：75%乙醇。

### 【样本要求】

- 样本适用类型：全血、红白细胞混合液等。
- 样本保存：可立即进行提取，也可于 2-8℃保存待测，不超过 24 小时，长期保存需置于-20℃。

### 【注意事项】

- 磁珠严禁冷冻，磁珠悬液使用前应充分混匀；
- 每次使用前检查结合液和清洗液是否析出，若有，可在 55℃条件下重新溶解。

### 【离心管手动提取操作步骤】

- 准备：**冷冻样本需提前进行室温或者 4℃解冻，将恒温混匀仪调至 60℃，转速设为 1600rpm。
- 裂解结合 DNA：**在离心管中添加 20μL 磁珠悬液、100-300μL 血样（不足的样本加洗脱液补齐）、580μL 结合液、20μL 蛋白酶 K，盖好离心管盖，涡旋混匀，于 1600rpm，60℃恒温震荡 30min。
- 磁性分离：**将离心管在离心机内轻甩 5s，再置于磁力架上静置 40s，使磁珠完全被磁力架吸附，彻底去除上清液（全程保持离心管固定于磁力架上），期间避免接触磁珠。

**4. 清洗 1:** 将离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入 600 $\mu$ L 清洗液, 盖好离心管盖, 涡旋振荡2-3min, 确保磁珠充分混匀, 进行磁性分离。

**5. 清洗 2:** 重复步骤 4 一次。

**6. 清洗 3:** 将离心管从磁力架上取下, 向离心管中加入 600 $\mu$ L 75%乙醇, 盖好离心管盖, 涡旋振荡1-2min, 确保磁珠充分混匀, 进行磁性分离。

**7. 清洗 4:** 重复步骤 6 一次。

**8. 除醇:** 将离心管置于磁力架上, 放置通风橱中, 风干 5min (至磁珠表面看不到液体光亮面即可)。

**9. 洗脱:** 取出离心管, 加入 100 $\mu$ L 洗脱液, 涡旋混匀 20s, 确保磁珠与洗脱液充分混匀, 55°C恒温震荡 10min。

**10. 核酸转移:** 将离心管置于磁力架上静置 1min, 待磁珠完全吸附后将上清转移至干净的无核酸酶的离心管中, 于-20°C保存备用。

#### 【机提—16/32 通道核酸提取仪操作步骤】

**1. 上样准备:** 在 96 孔板中分别参照下表用量加入每个相应孔位, 可同步完成 16/32 个样品的处理。

样品孔位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	结合液 (580 $\mu$ L)	清洗液 (600 $\mu$ L)	清洗液 (600 $\mu$ L)	75%乙醇 (600 $\mu$ L)	75%乙醇 (600 $\mu$ L)	洗脱液 (100 $\mu$ L)

**2. 加入血样 (冷冻血样需提前解冻):** 在 96 孔板的第 1/7 列依次加入 100-300 $\mu$ L 血液样品 (若血样体积不足 200 $\mu$ L, 请加入洗脱液补充至 200 $\mu$ L), 20 $\mu$ L 磁珠悬液, 20 $\mu$ L 蛋白酶 K。

**3. 上机提取:** 将准备好的 96 孔样品板放入核酸提取仪或同类型提取仪中, 并插入磁棒套; 打开仪器的操作程序, 选中相应程序, 点击运行, 开始提取。

**4. 核酸转移:** 仪器运行结束后, 将洗脱液转移至干净无核酸酶的离心管中, 于-20°C保存备用。

#### 32 通道核酸提取仪器程序各参数设置如下:

步骤 编号	孔 位	名称	等待时 间(min)	混合时 间(min)	吸磁时 间(sec)	容积 ( $\mu$ L)	混合速 度	温度 (°C)
1	1	裂解结合	0	30	120	860	3	105
2	2	清洗 1	0	4	60	600	3	OFF
3	3	清洗 2	0	3	60	600	3	OFF
4	4	清洗 3	0	2	60	600	3	OFF
5	5	清洗 4	0	1	60	600	3	OFF
6	6	洗脱	2	15	120	100	3	80
7	5	弃磁珠	0	1	0	600	3	OFF

#### 【机提—96 通道核酸提取仪操作步骤】

**1. 上样准备:** 在各 96 孔板中分别参照下表用量加入每个相应板位, 可同步完成 96 个样品的处理。

样品工位	1	2	3	4	5	6
试剂	结合液 (580 $\mu$ L)	清洗液 (600 $\mu$ L)	清洗液 (600 $\mu$ L)	75%乙醇 (600 $\mu$ L)	75%乙醇 (600 $\mu$ L)	洗脱液 (100 $\mu$ L)

**2. 加入血样 (冷冻血样需提前解冻):** 在工位 1 的 96 孔板内依次加入 100-300 $\mu$ L 血液样品 (若体积不足 200 $\mu$ L, 请加入洗脱液补充至 200 $\mu$ L), 20 $\mu$ L 磁珠悬液, 20 $\mu$ L 蛋白酶 K。

**3. 上机提取:** 将准备好的 96 孔样品板按序放入核酸提取仪或同类型提取仪中，并插入磁棒套；打开仪器的操作程序，选中对应程序，点击运行，开始提取。

**4. 核酸转移:** 仪器运行结束后，将第 6 工位的洗脱液直接封膜或转移至干净的无核酸酶的离心管中，于-20℃保存备用。

**96 通道核酸提取仪器程序各参数设置如下：**

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	1	2	3	4	5	6	5
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	3	3	3	3	3	3	3
混合时间	00:30:00	00:04:00	00:03:00	00:02:00	00:01:00	00:15:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:02:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:00:00
体积	860μL	600μL	600μL	600μL	600μL	100μL	600μL
温度	105°C	—	—	—	—	80°C	—