

# 游离 DNA 提取试剂盒

Free DNA Extraction Kit



**产品货号:** M7417S, M7417M

**产品规格:** 20 rxns, 100 rxns

**储存条件:** 2~8°C保存, 可在常温下短时间储存, 有效期见外包装

**应用范围:** 用于核酸的提取、富集、纯化等步骤

## 产品组分

组分	组分含量	
	M7417S	M7417M
A. 磁珠悬液	4 mL	20 mL
B. 裂解液	20 mL	100 mL
C. 洗涤液 I	60 mL	150 mL×2
D. 洗涤液 II	12 mL (首次使用前每瓶内加入 48 mL 乙醇)	30 mL×2(首次使用前每瓶内加入 120 mL 乙醇)
E. 洗脱液	3 mL	15 mL
F. 蛋白酶 K	10 mg (首次使用前加入 1 mL 溶液 A)	50 mg (首次使用前加入 5 mL 溶液 A)
G. 溶液 A	1 mL	5 mL

## 产品介绍

含有靶核酸的待分离样品经裂解后, 利用磁珠与 DNA 分子特异性识别和高效结合, 并利用磁性分离器或磁棒使磁珠吸附于管壁或磁棒套, 通过洗涤、洗脱、纯化过程得到所需的 DNA。

## 适用仪器

本试剂盒适用于 Thermo KingFisher Flex24 等大体积自动化核酸提取仪, 也适用于手动提取。

## 样本要求

新鲜或冷冻的血浆、血清、尿液或无细胞体液。样本处理示例:

**1. 血浆样本:** 取含有抗凝剂或游离 DNA 保存液的采血管中的血液放入冷冻离心机内设置 4°C, 3800 rpm (约 2000 g) 离心 10 min。使用移液枪缓慢吸取上层上清即为血浆, 吸取时枪头尽量远离中间的细胞层, 防止吸入细胞。取出上清后对上清再次进行 4°C, 10000 rpm (约 16000 g) 离心 10 min 后取上清, 以去除细胞碎片等杂质。

如血浆经冷冻再次融化, 需进行 4°C, 10000 rpm (约 16000 g) 离心 10 min 取上清, 以去除冻融产生的析出物。

**2. 血清样本:** 离体的血液室温 30 min 凝固之后, 放入冷冻离心机内设置 4°C, 3800 rpm (约 2000 g) 离心 10 min。使用移液枪缓慢吸取上清即为血清。



UElancy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelancy.com

3. **尿液样本**：取新鲜尿液样本放入冷冻离心机内设置4℃，3800 rpm（约2000 g）离心10 min。使用移液枪缓慢吸取上清，吸取时枪头尽量远离底部的细胞层。取出上清后对上清再次进行4℃，10000 rpm（约16000 g）离心10 min后取上清去除细胞碎片等杂质。

## 实验步骤

### 一. 首次使用前：

- 1.在蛋白酶K干粉中加入指定量（见瓶身标签）的溶液A，并于“□”内打上“√”，混匀后需保存于-20℃。
- 2.在洗涤液II中加入指定量（见瓶身标签）的无水乙醇（需客户自备），并于“□”内打上“√”，混匀。

### 二. 手动操作流程

#### 1. 客户自备物品

- (1) 1.5 mL离心管、15 mL离心管、50 mL离心管（仅适用于4 mL样本体积）
- (2) 单通道移液器：200 μL、1000 μL、5 mL
- (3) 涡旋震荡器
- (4) 恒温金属浴或水浴锅（60℃）
- (5) 2/15 mL磁性分离器、50 mL磁性分离器
- (6) 异丙醇
- (7) 无水乙醇

#### 2. 操作步骤

注意：不同样本体积及其它试剂加样量请参照表1要求！

(1) 裂解：取一个15 mL离心管（4 mL样本体积可使用50 mL离心管，如用15 mL离心管导致无法涡旋混匀可用上下翻转15 mL离心管20次替代涡旋混匀操作），加入表1对应体积的蛋白酶K，再依次加入表1对应体积的样本和裂解液，最大转速涡旋震荡混合均匀30 s后，将15 mL离心管置于恒温金属浴（或水浴锅）60℃加热20 min（每隔10 min涡旋震荡30 s）。

(2) 结合：向上述15 mL离心管中加入表1对应体积的异丙醇和磁珠悬液，最大转速涡旋震荡混匀30 s后，将15 mL离心管置于恒温金属浴（或水浴锅）60℃加热10 min（每隔5 min涡旋震荡30 s），然后将15 mL离心管置于磁性分离器上至溶液澄清，用移液器吸弃上清液，取下15 mL离心管。

(3) 洗涤：

注意：洗涤步骤b-d的磁吸过程中，溶液磁吸澄清后需同步上下翻转磁性分离器和离心管使管盖的磁珠吸附至管壁，减少磁珠损失。

a. 用移液器吸取1 mL洗涤液I反复吹打上述15 mL离心管中的磁珠20次，使磁珠充分重悬，用移液器吸取这1 mL磁珠悬液转移至新的1.5 mL离心管中，将1.5 mL离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器吸弃上清液后取下1.5 mL离心管。

b. 在上述1.5 mL离心管中加入1 mL洗涤液I，涡旋震荡1 min使磁珠充分重悬，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器吸弃上清液及管盖液滴，取下离心管。

c. 在上述1.5 mL离心管中加入1 mL洗涤液II，涡旋震荡1 min使磁珠充分重悬，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器吸弃上清液及管盖液滴，取下离心管。

d. 在上述1.5 mL离心管中加入1 mL洗涤液II，涡旋震荡1 min使磁珠充分重悬，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，用移液器吸弃上清液及管盖液滴，保持离心管于磁性分离器上静置1 min后用小量程的移液器吸弃管底及管壁的残留液滴。



Uelandy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com

(4) 干燥：保持离心管于磁性分离器上，于室温下静置5-10 min至磁珠表面无明显的液体光泽，取下离心管。

(5) 洗脱：在上述1.5 mL离心管中加入表1对应体积的60°C预热的洗脱液，涡旋震荡1 min或用移液器吹打磁珠50次，使管壁的磁珠充分重悬，于恒温金属浴（或水浴锅）60°C加热3-5 min后，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，转移上清液至新的1.5 mL离心管中，此即为纯化后的游离DNA。

注意：本产品手动操作洗脱体积可低至20  $\mu$ L，但需注意洗脱效率与洗脱液体积有关，洗脱液体积越大，洗脱效率越高，洗脱核酸总量越多。

表1. 手动操作不同样本体积及其它试剂加样量

加入试剂 \ 样本体积	600 $\mu$ L	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
蛋白酶 K	30 $\mu$ L	50 $\mu$ L	100 $\mu$ L	150 $\mu$ L	200 $\mu$ L
样本	600 $\mu$ L	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
裂解液	600 $\mu$ L	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
异丙醇	600 $\mu$ L	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
磁珠悬液	120 $\mu$ L	200 $\mu$ L	400 $\mu$ L	600 $\mu$ L	800 $\mu$ L
洗脱液	20~50 $\mu$ L	20~50 $\mu$ L	50~100 $\mu$ L	50~150 $\mu$ L	50~150 $\mu$ L

### 三. 自动化操作流程

可以适配市面上大部分品牌核酸提取仪，详细参数请联系我司技术支持或设备厂商技术支持。

### 注意事项

1. 操作之前，请务必认真阅读本产品手册。
2. 提取效果与样本质量有关，应避免对样本进行反复冻融。如冻融后样本中有析出物，应高速离心去除析出物。
3. 应避免对磁珠进行冷冻或过度干燥，否则会严重降低提取效率。
4. 磁珠每次取用前应充分重悬均匀。
5. 使用前请检查各组分是否存在析出情况，如有析出，请将试剂瓶置于60°C水浴加热溶解后使用。本说明书提供3种样本处理方法。

