

# 多样本 DNA 提取试剂盒

Multi Sample DNA Kit



**产品货号：** MAG-MS-GDNA-50, MAG-MS-GDNA-250

**产品规格：** 50 rxns、250 rxns

**运输条件：** 常温运输

**保存条件：** PK Soln 2-8°C保存 12 个月，-20°C长期保存，其它组分室温保存 12 个月。

**应用范围：** 抗凝全血或血液白膜层、唾液、含保存液拭子、干拭子/棉签、干血斑、动物组织、培养 细胞、FFPE、指甲或头发、革兰氏阴性菌。

## 产品组分

组分	MAG-MS-GDNA-50	MAG-MS-GDNA-250
MB Mix	0.75 mL	3.75 mL
PK Soln	1.25 mL	6.25 mL
Buffer ATL*1	20 mL	100 mL
Buffer AL	20 mL	100 mL
Buffer DW1	50 mL	250 mL
Buffer DW2 (concentrate) *2	15 mL	75 mL
Buffer EB	5 mL	25 mL

\*注：

- 1) 若使用前 Buffer ATL 有沉淀，需在 56°C下温育溶解后使用；
- 2) Buffer DW2 为浓缩溶液，使用前请按照瓶身标签提示加入无水乙醇进行稀释。

## 产品介绍

本产品适用于从多种类型样本中提取 DNA，如：全血或血液白膜层、唾液、含保存液拭子、干拭子/棉签、干血斑、动物组织、培养细胞、FFPE 等样本。试剂盒采用了磁性纳米颗粒固相核酸富集技术，精选高性能纳米磁珠，配合精心研制的 Buffer 体系组合而成。提取所得的 DNA 产物可直接用于 PCR、qPCR、芯片分析、NGS 等各种下游分子生物学实验。

## 适用仪器

适用于基于磁转移技术的 32 位或 96 位核酸提取仪。如 BIO-DL 32, TIANGEN TGuide S32, TIANLONG NP968-C, Rosetta 96 等自动化核酸提取仪，也适用于手动提取。

## 操作步骤

### 一. 首次使用前：

1. 样本前处理步骤，若使用水浴锅进行裂解，期间需将内容物颠倒混匀2~3次；若使用恒温振荡器裂解，建议设置振荡速度为1000~1500 rpm；
2. Buffer DW2使用前需按照试剂瓶标签提示加入无水乙醇进行稀释后使用；



3. 建议使用Buffer DW1清洗2次，可改善所得DNA纯度。
4. 自备试剂：异丙醇（AR）、无水乙醇（AR）

## 二. 样本前处理

### A. 抗凝全血或血液白膜层

1. 向2 mL离心管中加入25  $\mu$ L PK Soln。
2. 加入250  $\mu$ L抗凝全血样本至上述离心管。

注：禽类抗凝血液，取10~15  $\mu$ L并加入去离子水补足至250  $\mu$ L，再进行下一步实验。

3. 加入250  $\mu$ L Buffer AL，高速涡旋10秒，于70°C振荡温浴15分钟。短暂离心后 冷却至室温。
4. 向离心管中加入350  $\mu$ L异丙醇和15  $\mu$ L MB Mix，涡旋振荡5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

### B. 新鲜唾液、含保存液的唾液或含保存液拭子

1. 向2 mL离心管中加入25  $\mu$ L PK Soln。
2. 加入300  $\mu$ L新鲜唾液样本（或唾液/保存液混合液、充分涡旋的拭子/保存液混合液 样本）至上述离心管。
3. 加入300  $\mu$ L Buffer AL，高速涡旋10秒，于70°C振荡温浴15分钟。短暂离心后 冷却至室温。
4. 向离心管中加入350  $\mu$ L异丙醇和15  $\mu$ L MB Mix，涡旋振荡5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

### C. 干拭子/棉签样本

1. 转移采集完细胞的干拭子（或棉签）至2 mL离心管中，加入25  $\mu$ L PK Soln。
2. 加入400  $\mu$ L Buffer ATL，高速涡旋10秒，于58°C振荡温浴30分钟。
3. 加入400  $\mu$ L Buffer AL，涡旋混匀，于70°C振荡温浴10分钟，10,000 $\times$ g 离心1分钟后，吸取600  $\mu$ L上清液转移至新的2 mL离心管中。
4. 向离心管中加入350  $\mu$ L异丙醇和15  $\mu$ L MB Mix，涡旋振荡5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

### D. 干血斑（DBS）

1. 转移3~10片3 $\times$ 3 mm尺寸的干血斑（或1~4片6 $\times$ 6 mm尺寸的干血斑）至2 mL离心管中，加入25  $\mu$ L PK Soln。
2. 加入400  $\mu$ L Buffer ATL，高速涡旋10秒，于58°C振荡温浴30~60分钟。

注：剧烈振荡对干血斑样本中DNA释放是有利的，建议在1,500 rpm下进行操作，陈旧血卡、动物血卡、过量血卡可适当延长裂解时间。

3. 加入400  $\mu$ L Buffer AL，涡旋混匀，于70°C振荡温浴10~15分钟。10,000 $\times$ g离心1分钟后，吸取600  $\mu$ L上清液转移至新的2 mL离心管中。
4. 向离心管中加入350  $\mu$ L异丙醇和15  $\mu$ L MB Mix，涡旋振荡5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

### E. 动物组织

1. 转移小于30 mg动物组织至2 mL离心管中，加入25  $\mu$ L PK Soln。
2. 加入300  $\mu$ L Buffer ATL，高速涡旋10秒。58°C振荡温浴30~60分钟或延长至完全消化样本。（如果需要去除 RNA，加入2~4  $\mu$ L RNaseA（100 mg/mL）室温放置10分钟以降解 RNA）。



注1: 对于不易消化的组织样本, 可延长消化时间至消化完全; 若存在长时间未能消化完全的物质, 可 $10,000\times g$ 离心1分钟, 然后转移上清液至新的2 mL离心管中。

注2: 对于骨头和牙齿, 需要先液氮研磨成粉末, 取100 mg 粉末进行实验, 需延长消化时间。

3. 加入300  $\mu$ L Buffer AL, 涡旋10秒混合均匀。

注: 对于不易裂解的组织样本且希望获得更好的DNA质量, 需继续在70°C下裂解10分钟; 对于组织量少且较易裂解的组织样本, 无需该70°C裂解步骤。

4. 向离心管中加入350  $\mu$ L异丙醇和15  $\mu$ L MB Mix, 涡旋振荡5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

#### F. 培养细胞

1. 取一定量的细胞样本 ( $<5\times 10^6$  cells) 置于2 mL离心管中,  $1,000\times g$  离心5分钟收集细胞, 小心弃去上清液。

2. 加入25  $\mu$ L PK Soln和300  $\mu$ L PBS缓冲液, 涡旋打散细胞。

3. 加入300  $\mu$ L Buffer AL, 涡旋10秒, 于70°C振荡温浴15分钟。短暂离心后, 冷却至室温。

4. 向离心管中加入350  $\mu$ L异丙醇和15  $\mu$ L MB Mix, 涡旋振荡5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

#### G. FFPE

1. 将 2~8张石蜡切片(厚度5~10  $\mu$ m) 转入2 mL离心管中, 用二甲苯或代替物脱除石蜡, 然后用无水乙醇清洗干净, 烘干。

2. 加入25  $\mu$ L PK Soln和300  $\mu$ L Buffer ATL, 高速涡旋10秒, 于58°C振荡温浴30~60分钟或至样本完全裂解。

3. 将离心管置于90°C下温浴60分钟(此步骤无需振荡)。短暂离心后冷却至室温。

4. 向离心管中加入300  $\mu$ L Buffer AL、350  $\mu$ L异丙醇和15  $\mu$ L MB Mix, 涡旋振荡5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

#### H. 指甲、头发和羽毛

1. 转移10~25 mg指甲、头发或羽毛样本至2 mL离心管中。

注: 指甲样本尽量剪成小片; 头发样本从发根部剪下0.5~1 cm数根; 羽毛样本剪下1~5 cm长并剪短; 精斑样本取 $<0.5$  cm<sup>2</sup>; 精液样本吸取100  $\mu$ L。

2. 加入25  $\mu$ L PK Soln、20  $\mu$ L 1M DTT和300  $\mu$ L Buffer ATL, 高速涡旋10秒后, 于58°C振荡温浴30~60分钟或延长至完全消化样本。

注: 对于毛发样本, 通常1小时即可达到基本消化; 对于指甲样本, 无需等待指甲完全消化, 通常1~6小时后即可吸取消化液进行下一步实验; 精斑&精液样本至少消化1小时。

3. 加入300  $\mu$ L Buffer AL, 涡旋 10 秒。

4. 向离心管中加入350  $\mu$ L异丙醇和15  $\mu$ L MB Mix, 涡旋振荡 5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

#### I. 革兰氏阴性菌

1. 取一定量的细菌培养液1~5 mL ( $<2\times 10^9$  cells)  $10,000\times g$  离心1分钟, 小心弃去 上清液。

2. 加入25  $\mu$ L PK Soln和300  $\mu$ L Buffer ATL至上述离心管。涡旋10秒后, 于58°C振荡温浴30分钟。

3. 加入300  $\mu$ L Buffer AL, 涡旋10秒。

注: 对于大量细菌, 可继续在70°C下裂解10分钟; 对于少量细菌, 则无需该70°C裂解步骤。





4. 向离心管中加入350  $\mu\text{L}$  异丙醇和15  $\mu\text{L}$  MB Mix, 涡旋振荡5~10分钟。按【纯化步骤】继续进行后续操作。

### 三. 纯化步骤: 手动法

5. 短暂离心, 将离心管内液体收集至底部, 然后将离心管置于磁力架上静置30秒。

待磁珠完全吸附后, 用移液器吸弃管内液体。

6. 向离心管中加入700  $\mu\text{L}$  Buffer DW1, 1,000 rpm 涡旋振荡2~3分钟, 磁性分离, 吸弃上清液。

注: 如对核酸产物纯度要求较高, 该步清洗方案可变更为使用500  $\mu\text{L}$  Buffer DW1 清洗2次, 可获得更优的A260/280和A260/230 数值。

7. 向离心管中加入700  $\mu\text{L}$  Buffer DW2 (已用乙醇稀释), 1,000 rpm 涡旋振荡2~3分钟, 磁性分离, 吸弃上清液。

8. 重复上述步骤 7 一次。

9. 将离心管继续保持在磁力架上, 放入45~50°C烘箱中, 干燥约10分钟至无明显乙醇气味(也可室温晾干, 但需要更长时间)。

10. 挥发除醇结束后, 向离心管中加入50~100  $\mu\text{L}$  Buffer EB, 吹散或振散磁珠, 58°C 振荡温浴5~10分钟。磁性分离, 将洗脱液转移至另一干净离心管中, 得DNA产物, 保存于-20°C。

### 四. 纯化步骤: 96位核酸提取仪

1. 将Sample Plate中加入350  $\mu\text{L}$  异丙醇和15  $\mu\text{L}$  MB Mix (可预先混合);

2. 在Sample Plate中加入相应体积的不同样本的裂解上清液;

3. 将96位磁棒套放入到Wash 3 Plate中(必须准确放入, 否则可能损坏磁棒套。此步骤为针对King Fisher Flex, 若使用其它品牌仪器请做相应调整)。

4. 将试剂板按对应顺序放入核酸提取仪中, 运行程序。

5. 程序运行完毕, 转移Elute Plate中DNA至新离心管中, 提取过程结束。

注: 长时间保存建议将DNA产物保存于-20°C环境。



试剂板	内容物	KingFisher Flex
Sample Plate	Lysate: adjusted volume 异丙醇: 350 $\mu$ L MB Mix: 15 $\mu$ L	/
Wash 1 Plate	Buffer DW1: 500 $\mu$ L	/
Wash 2 Plate	Buffer DW1: 500 $\mu$ L	/
Wash 3 Plate	Buffer DW2: 700 $\mu$ L	放入 96-Tip
Wash 4 Plate	Buffer DW2: 700 $\mu$ L	/
Elute Plate	Buffer EB: 50~100 $\mu$ L	/

注： 建议使用Buffer DW1 清洗2 次，可改善所得DNA 纯度

#### 【KingFisher Flex核酸提取仪程序参数】

步骤	盘位	名称	等待时间 (sec)	混合时间 (sec)	磁吸时间 (sec)	容积( $\mu$ L)	混合速度	温度( $^{\circ}$ C)
1	1	Binding	0	360	30	850	3	OFF
2	2	Wash 1	0	180	30	500	3	OFF
3	3	Wash 2	0	180	30	500	3	OFF
4	4	Wash 3	0	120	30	700	3	OFF
5	5	Wash 4	0	120	30	700	3	OFF
6	8	Elution	300	360	60	100	3	60
7	4	Beads Discarding	0	30	0	700	3	OFF

注：不同厂家核酸提取仪参数可根据实际情况进行调整。

## 常见问题

### 1. DNA 得量低

- 样本类型、样本量、储存条件以及存放时长会影响DNA得量。
- Buffer DW2未按瓶子标签所示加入正确体积的无水乙醇。
- 裂解不充分，可适当增加裂解时间。

### 2. 纯度低

- 裂解不充分，可适当增加裂解时间。
- 未按说明书方式进行正确的清洗。
- 增加1次Buffer DW1清洗。

### 3. DNA 碎片化严重

- 样本存放时间过久。
- 样本反复冻融。

