



核酸提取或纯化试剂（柱式法）说明书

浙杭械备 20200937 号

【产品名称】

通用名称：核酸提取或纯化试剂（柱式法）

商品名称：组织基因组 DNA 小量提取试剂盒（柱式法）

英文名称：Tissue gDNA Isolation Mini Kit (Column)

【型号/规格】

BW-GD2211：50 人份/盒，250 人份/盒

【预期用途】

用于核酸的提取、富集、纯化等步骤。其处理后的产物用于临床体外检测使用。

【检验原理】

本试剂盒采用特异性结合 DNA 的离心吸附柱，配合独特的裂解缓冲液系统，能够高效提取各种组织、培养细胞、石蜡包埋组织等样本的基因组 DNA。离心吸附柱中的硅基质材料可以高效、专一地吸附 DNA，通过洗涤去除蛋白质等杂质。提取得到的基因组 DNA 完整性好、纯度及得率高，可直接用于下游操作，如酶切、PCR 扩增、文库构建、杂交实验等。

【主要组成成分】

成分/规格	50 人份/盒	250 人份/盒
Mini DNA 吸附柱	50 个	250 个
2 mL 收集管	50 个	250 个
TL 缓冲液	13 mL	65 mL
BL 缓冲液	13 mL	65 mL
KB 缓冲液	26 mL	130 mL
DNA 洗涤液*	15 mL	3×24 mL
洗脱缓冲液	11 mL	55 mL
蛋白酶 K	1.3 mL	5×1.3 mL

*DNA 洗涤液在首次使用时，请在瓶中加入 60 mL（50 人份/盒）或 96 mL（250 人份/盒）无水乙醇，乙醇终浓度为 80%。

【储存条件及有效期】

试剂盒 4-28℃ 避光保存。产品有效期 12 个月。

【样本要求】

本试剂盒单次最多可以处理 30 mg 动物组织、 5×10^6 个培养细胞、0.2~0.5 cm 鼠尾、2~3 mm³ 石蜡包埋（FFPE）组织等。

【注意事项】

- 对含有病原微生物的样本进行操作时，应根据病原微生物的危害程度选择符合相应生物安全等级要求的实验环境进行操作。





- 实验操作时应穿戴合适的防护装备，如防护服、实验服、手套、护目镜等。
- 本试剂盒中的 BL 缓冲液、TL 缓冲液储存过程中可能会形成结晶，使用前请于 50℃ 加热，使沉淀溶解。
- BL 缓冲液、TL 缓冲液中含有离液盐，与漂白剂结合可能形成活性化合物，勿直接加入漂白剂及酸溶液。

【检验方法】

各类组织、细胞、鼠尾、石蜡包埋（FFPE）组织等 gDNA 提取，分别按照以下步骤进行操作。

1. 组织 gDNA 提取步骤

以下方法适用于从至多 30 mg 动物组织中提取基因组 DNA。

- 1.1 将 20-30 mg 组织切碎（尽量切成小块以加速裂解过程），置于 1.5 mL 离心管（自备）中，加入 200 μ L TL 缓冲液。
可选操作：利用液氮研磨等方式将 20-30 mg 组织均质化，可以促进裂解并减少孵育时间；一旦液氮蒸发完，迅速转移样品粉末至 1.5 mL 离心管中，然后加入 200 μ L TL 缓冲液。
- 1.2 加入 25 μ L 蛋白酶 K，涡旋混匀后 50℃ 震荡孵育至组织彻底裂解。若无震荡摇床，可以进行 50℃ 孵育，并每隔 20-30 min 涡旋混匀一次。**注意：**裂解时间因组织类型及处理量的差别而有所不同，一般情况裂解可在 3h 内完成。如有需要，也可以进行过夜孵育裂解。
- 1.3 **可选步骤：**本试剂盒可用于肝脏等含有大量 RNA 的组织样本的 gDNA 提取，此时部分 RNA 可能会同 gDNA 一起被提取，但一般不影响 PCR 扩增等下游反应。如果需要去除 RNA，可在此步加入 4 μ L 20 mg/mL 的 RNase A（自备），室温孵育 2 min，然后进行下一步操作。
- 1.4 $\geq 12,000 \times g$ 离心 5 min，小心吸取上清液并转移到新的无菌离心管。
- 1.5 加入步骤 1.4 转移的上清液等体积（~220 μ L）的 BL 缓冲液，涡旋混匀，70℃ 孵育 10 min。**注意：**加入 BL 缓冲液后会有纤维状沉淀形成，不影响后续 DNA 纯化。
- 1.6 加入步骤 1.4 转移的上清液等体积（~220 μ L）的无水乙醇（室温，自备），涡旋混匀。
- 1.7 将 Mini DNA 吸附柱插入 2 mL 收集管，将上一步得到的所有溶液包括少量沉淀转移至吸附柱中，10,000 $\times g$ 离心 1 min，弃滤液。
- 1.8 将 Mini DNA 吸附柱插回 2 mL 收集管，加入 500 μ L KB 缓冲液，10,000 $\times g$ 离心 1 min，弃滤液。
- 1.9 将 Mini DNA 吸附柱插回 2 mL 收集管，加入 600 μ L DNA 洗涤液，10,000 $\times g$ 离心 1 min，弃滤液。**注意：**首次使用时确保已按照标签说明在 DNA 洗涤液中加入了规定体积的无水乙醇。如 DNA 洗涤液低温保存，则恢复至室温后使用。
- 1.10 重复步骤 1.9 一次。





- 1.11 将 **Mini DNA 吸附柱** 插回 **2 mL 收集管**，保持 **Mini DNA 吸附柱** 盖子打开，以最大速度 ($\geq 12,000 \times g$) 离心 **2 min**，去除乙醇残留。此步骤对于保证后续 DNA 洗脱效果非常重要。
- 1.12 将 **Mini DNA 吸附柱** 插入新的无菌 1.5 mL 离心管（自备），加入 **100-150 μL** 65°C 预热的 **洗脱缓冲液**。室温静置 **1-3 min**， $\geq 12,000 \times g$ 离心 **1 min**。注意：洗脱缓冲液体积小于 50 μL 会显著降低 DNA 得率；加入洗脱缓冲液后进行 65°C 孵育可以提高 DNA 得率。
- 1.13 **可选步骤**：将洗脱的 DNA 溶液重新加入 **Mini DNA 吸附柱**，室温静置 **1-3 min**， $\geq 12,000 \times g$ 离心 **1 min**，将会增加 DNA 得率。
- 1.14 所得 DNA 样本可以直接用于下游反应或者 -20°C 保存备用。

2. 培养细胞 gDNA 提取步骤

此方法可从约 5×10^6 个培养细胞中快速分离约 25 μg 的基因组 DNA。

2.1 细胞悬浮液制备：

- a) 若样品为冻存细胞：融化样品， $1,200 \times g$ 离心 **5min** 收集细胞；适量 **PBS 缓冲液** 清洗细胞；再次 $1,200 \times g$ 离心 **5min**，弃上清；使用 **200 μL TL 缓冲液** 重悬细胞。
- b) 若样品为悬浮细胞： $1,200 \times g$ 离心 **5min** 收集细胞，弃上清；适量 **PBS 缓冲液** 清洗细胞；再次 $1,200 \times g$ 离心 **5min**，弃上清；**200 μL TL 缓冲液** 重悬细胞。
- c) 若样品为单层生长细胞：使用橡胶片刮取细胞，离心并使用适量 **PBS 缓冲液** 清洗细胞 2 次；加入 **200 μL TL 缓冲液** 重悬细胞。

2.2 加入 **25 μL 蛋白酶 K**，涡旋混匀，50°C 振荡孵育至细胞完全裂解。

2.3 **可选步骤**：若培养细胞中含有大量 RNA，可在此步加入 **4 μL 20 mg/mL 的 RNase A**（自备），室温孵育 **2 min**，然后进行下一步操作。

2.4 后续按照组织 gDNA 提取步骤 **1.4** 到 **1.14** 进行操作。

3. 鼠尾 gDNA 提取步骤

3.1 剪两段 **0.2-0.5 cm** 的鼠尾，放入无菌的 1.5 mL 离心管，加入 **180 μL TL 缓冲液**。注：实验用鼠不宜超过 6 周龄，否则组织样品较难裂解，可能会降低 DNA 得率。可在小鼠 2-4 周龄时采集鼠尾样本，-70°C 保存备用。

3.2 加入 **25 μL 蛋白酶 K**，涡旋混匀，50°C 振荡孵育 **1-4 h** 至鼠尾完全裂解。若无震荡摇床，可以进行 50°C 孵育，并每隔 **20-30 min** 涡旋混匀一次。注：鼠尾裂解时间取决于鼠尾长度和鼠的年龄。裂解不完全可能会堵塞 **Mini DNA 吸附柱**，并显著降低 DNA 得率。

3.3 **可选步骤**：鼠尾 RNA 含量较低，会与 DNA 一起被分离出来；但一般不影响 PCR 扩增等反应。若要去掉 RNA，可在样品中加入 **4 μL 20 mg/mL 的 RNase A**（自备），室温孵育 **2 min**，然后进行下一步操作。

3.4 后续按照组织 gDNA 提取步骤 **1.4** 到 **1.14** 进行操作。





4. FFPE 样本 gDNA 提取步骤

- 4.1 将至多 **30 mg** (约 **2-3 mm³**) FFPE 样本置于一个 2 mL 离心管中 (自备)。
- 4.2 加入 **1 mL** 二甲苯 (自备)，涡旋混匀，用以去除石蜡。
- 4.3 室温 **10,000 ×g** 离心 **10 min**，弃上清。
- 4.4 加入 **1 mL** 无水乙醇，**10,000 ×g** 离心 **5 min**，小心弃乙醇，确保沉淀完好无损。
注：此步用以去除残留二甲苯。
- 4.5 重复步骤 **4.4** 一次。
- 4.6 敞开管口，**37°C** 干燥沉淀 **15 min**。
- 4.7 加入 **200 μL TL 缓冲液**；
- 4.8 后续按照组织gDNA提取步骤从**1.2**到**1.14**进行操作。

注意：FFPE 提取过程洗脱 gDNA 时，推荐使用 **50-100 μL 65°C** 预热的**洗脱缓冲液**。DNA 得率取决于样本类型、储存时间和固定条件等；通过增加 **TL 缓冲液** 孵育时间可能会提高 DNA 得率。采用**多聚甲醛**进行固定时，组织中的 DNA 和 RNA 会发生降解。不同固定剂保存样本中的 DNA 片段长度会有所差异，片段常小于 500 bp，这种降解主要来自组织中 DNA 片段本身发生的降解。

【产品性能指标】

本试剂盒可以从约 30 mg 组织样本或 5×10^6 个细胞中分离得到 5-30 ug 基因组 DNA，OD260/OD280 比值为 1.7-1.9。

当提取组织或细胞基因组 DNA 时，试剂盒批内精密度和批间精密度测试的变异系数 (CV 值) 均小于等于 15%。

【基本信息】

备案/生产企业名称：杭州倍沃医学科技有限公司

住所：浙江省杭州市余杭区仓前街道余杭塘路 2636 号 1 幢 101 室

联系电话：0571-56390365

网址：www.biomiga.com.cn

售后服务单位名称：杭州倍沃医学科技有限公司

联系电话：0571-56390382

生产地址：浙江省杭州市余杭区仓前街道余杭塘路 2636 号 1 幢 101 室

第一类医疗器械生产备案凭证编号：浙杭食药监械生产备 20190044 号

【医疗器械备案凭证编号】

浙杭械备 20200937 号

【说明书核准及修改日期】

批准日期：2020 年 08 月 31 日

修改日期：2022 年 03 月 25 日

