

版本号: DP180625

Magnetic Blood Spots DNA Kit

磁珠法干血斑基因组DNA提取试剂盒

目录号: DP344

产品内容

产品组成	DP344-01 (50 preps)	DP344-02 (200 preps)
缓冲液 GAS (Buffer GAS)	25 ml	100 ml
缓冲液 GHC (Buffer GHC)	20 ml	80 ml
去蛋白液 PD (Buffer PD)	120 ml	2 × 240 ml
漂洗液 PWB (Buffer PWB)	15 ml	50 ml
Proteinase K	1 ml	3 × 1 ml
磁珠悬浮液 G (MagAttract Suspension G)	0.5 ml	2 × 1 ml
洗脱缓冲液 TBC (Buffer TBC)	15 ml	30 ml

储存条件

该试剂盒置于室温(15-25°C)干燥条件下,可保存12个月,更长时间的保存可置于2-8°C。2-8°C保存条件下,若溶液产生沉淀,使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间,必要时可在37°C水浴中孵育10 min,以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，从干血斑中分离纯化高质量基因组 DNA。独特包埋的磁珠，在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，而当条件改变时，磁珠释放吸附的核酸，能够达到快速分离纯化核酸的目的。整个过程安全、便捷，提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠，尤其适合高通量工作站的自动化提取。

产品特点

- 简便快捷：1 h 内即可获得超纯的基因组 DNA。
- 高通量：可整合移液法自动化仪器和磁棒法自动化仪器进行高通量提取实验
- 安全无毒：无需酚 / 氯仿等试剂
- 纯度高：获得的 DNA 纯度高，可直接用于芯片检测、高通量测序等实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 本产品适用于手工提取或自动化仪器整合。
2. 自备试剂：异丙醇，乙醇
3. 若缓冲液 GAS、缓冲液 GHC 中有沉淀，可在 37°C 水浴中重新溶解，摇匀后使用。

操作步骤

使用前请先在缓冲液 **GHC** 中加入异丙醇，漂洗液 **PWB** 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶子上的标签。

一、手工操作步骤：

1. 样本处理：向 1.5 mL 离心管中加入 3-10 片直径为 3 mm 的干血斑样品，加入 200- 400 μ l 的缓冲液 **GAS** 和 15 μ l **Proteinase K** 溶液。

干血斑片数	缓冲液 GAS 加入量
3 片	200 μ l
5 片	300 μ l
10 片	400 μ l

2. 涡旋震荡 10 sec 混匀后，放入预热至 75 $^{\circ}$ C 的恒温震荡器中，900 rpm 恒温震荡裂解 45 min。

注意：当样本数目比较大时，可以将缓冲液 **GAS** 和 **Proteinase K** 按比例预先混合，混合后放置不要超过 1 h。

3. 在上一步样品裂解期间，向新的离心管中加入 10 μ l 磁珠悬浮液 **G**，600 μ l 缓冲液 **GHC**（使用前请确认是否已加入异丙醇），抽打混匀或振荡混匀 10 sec。

注意：当样本数目比较大时，可以将磁珠悬浮液 **G**，缓冲液 **GHC** 按比例预先混合并抽打或振荡混匀 20 sec，混合后每个样本用量为 610 μ l。

4. 样品裂解后，将步骤 2 中离心管短暂离心后室温放置 2 min，并将裂解液上清转移至步骤 3 中的离心管，然后将其放入恒温振荡器，室温 900 rpm 震荡 10 min。

注意：尽量不要吸到滤纸片，否则会影响到磁珠与核酸结合，导致得率降低。

5. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附时小心去除液体。
6. 将离心管从磁力架上取下，加入 900 μ l 去蛋白液 **PD**，抽打混匀或振荡混匀 2 min。
7. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附时小心去除液体。

-
8. 将离心管从磁力架上取下，加入 900 μ l 去蛋白液 PD，抽打混匀或振荡混匀 2 min。
 9. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附后小心去除液体。
 10. 将离心管从磁力架上取下，加入 900 μ l 漂洗液 PWB (使用前请确认是否已加入无水乙醇)，抽打混匀或振荡混匀 2 min。
 11. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附后小心去除液体。将离心管放置于磁力架上静置 30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
 12. 将离心管于磁力架上，室温晾干 10-15 min。
注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱 DNA。
 13. 加入 30-50 μ l 洗脱缓冲液 TBC 或去离子水，抽打混匀或振荡混匀，置于 56 $^{\circ}$ C，孵育 5-10 min。
 14. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附时小心将 DNA 溶液转移至新的离心管，并于适当条件保存。

二、移液法自动化仪器提取步骤

准备工作及注意事项：

1. 本产品可整合 Hamilton Microlab STAR、Beckman Coulter Biomek® FX 和 Capitalbio LabKeeper 等移液法自动化仪器进行高通量血液基因组提取工作。
2. 磁珠稀释液的配制：按照 10 μ l 磁珠悬浮液 G 加入 40 μ l 异丙醇的比例混合，混合后每个样本用量为 50 μ l。
3. 考虑仪器设定温度和 96 孔板内的实际温度有一定的偏差，在裂解和洗脱时建议仪器设定温度比实际使用温度高出 10 $^{\circ}$ C。

提取步骤：

1. 按照手工提取步骤 1, 2 中的方法进行样品的处理，然后转移到 96 深孔板（自备）中。
2. 每孔加入 600 μ l 缓冲液 GHC（使用前请确认是否已加入异丙醇），室温振荡混匀 5 min。
3. 每孔加入 10 μ l 磁珠悬浮液 G 或 50 μ l 稀释的磁珠悬浮液 G，吹吸 6 次，然后振荡混匀 10 min。
4. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
5. 将深孔板从磁力架上取下，加入 100 μ l 去蛋白液 PD，振荡混匀 2 min。然后再加入 600 μ l 去蛋白液 PD，吹吸 6 次，然后振荡混匀 2 min。
6. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
7. 将深孔板磁力架上取下，加入 500 去蛋白液 PD，振荡混匀 2 min。
8. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
9. 将深孔板从磁力架上取下，加入 100 μ l 漂洗液 PWB，振荡混匀 1 min。然后加入 600 μ l 漂洗液 PWB（使用前请确认是否已加入无水乙醇），吹吸 6 次，然后振荡混匀 2 min。
10. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
11. 将深孔板置于磁力架上，37 $^{\circ}$ C 晾干 5 min。
12. 将深孔板从磁力架上取下，加入 50-100 μ l 洗脱缓冲液 TBC，置于 65 $^{\circ}$ C，振荡混匀 10 min。
13. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，小心将 DNA 溶液转移至收集板中，并于适当条件保存。

三、磁棒法自动化仪器提取步骤：

准备工作及注意事项：

本产品可整合 Thermo KingFisher Flex 等有加热装置的磁棒法自动化仪器进行高通量干血斑基因组提取工作，本说明书以 Thermo KingFisher Flex 为例，其他仪器可根据机器特点调整。

提取步骤：

1. 按照手工提取步骤 1, 2 中的方法处理干血斑样品，向含有缓冲液 GHC 的深孔板中加入 200-300 μl 处理好的溶液。依次将其余 4 块深孔板按照程序提示放入提取仪中。

深孔板编号	缓冲液种类	使用体积
1	缓冲液 GHC	600 μl
2	去蛋白液 PD/ 磁珠悬浮液 G	900 μl / 10 μl / 磁力套
3	去蛋白液 PD	300 μl
4	漂洗液 PWB	500 μl
5	洗脱缓冲液 TBC	50-100 μl

2. 程序开始后，移动磁力棒抓取磁力套，转移至含样品及缓冲液 GHC 的 1 号深孔板中速拍打混匀 2 min。
3. 将磁力套转移至去蛋白液 PD 的 2 号深孔板上去吸附磁珠 3 次，每次 5 sec。
4. 将磁力棒和磁力套吸附的磁珠转移至含样品及缓冲液 GHC 的 1 号深孔板中速拍打混匀 10 min，然后吸附磁珠 3 次，每次 5 sec。
5. 将吸附的磁珠转移至含有去蛋白液 PD 的 2 号深孔板中，释放磁珠，快速拍打混匀 3 min，然后吸附磁珠 3 次，每次 5 sec。
6. 将吸附的磁珠转移至含有去蛋白液 PD 的 3 号深孔板中，释放磁珠，快速拍打混匀 3 min，然后吸附磁珠 3 次，每次 5 sec。

-
7. 将吸附的磁珠转移至含有漂洗液 PWB 的的 4 号深孔板中，释放磁珠，快速拍打混匀 3 min，然后吸附磁珠 3 次，每次 5 sec。
 8. 将磁力棒和磁力套吸附的磁珠在含有漂洗液 PWB 的 4 号深孔板上悬空晾干 5 min。
 9. 将磁棒吸附的磁珠转移至含有洗脱液 TBC 的 5 号深孔板中，释放磁珠，置于 75°C，拍打混匀 12 min。然后吸附磁珠 5 次，每次 20 sec。
 10. 将磁力棒和磁力套吸附的磁珠转移至含有漂洗液 PWB 的的 4 号深孔板中。
 11. 程序结束后，小心将 DNA 溶液转移至收集板，并于适当条件保存。

DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA 应在 OD260 处有显著吸收峰，OD260 值为 1 相当于大约 50 µg/ml 双链 DNA、40 µg/ml 单链 DNA。

OD260/OD280 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

浓缩国际权威精华， 铸就 TIANGEN 优秀品质！

TIANGEN 为您提供国际化标准的生物学产品和服务

- PCR、RT-PCR 系列
- 核酸 DNA、RNA 分离纯化系列
- DNA 分子量标准
- 克隆载体、感受态细胞
- 细胞生物学产品
- 蛋白分子量标准
- 蛋白质染色、检测及定量相关产品