

版本号: DP150128

# Magnetic Blood Genomic DNA Kit

## 磁珠法血液基因组DNA提取试剂盒

目录号: DP329

### 产品内容

产品组成	DP329-01 (50 preps)	DP329-02 (200 preps)
裂解液GHL (Buffer GHL)	20 ml	80 ml
缓冲液GDA (Buffer GDA)	25 ml	90 ml
漂洗液PWD (Buffer PWD)	20 ml	2 × 40 ml
Proteinase K	1 ml	4 × 1 ml
磁珠悬浮液G (MagAttract Suspension G)	1 ml	4 × 1 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml	30 ml

### 储存条件

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下，可保存12个月，更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃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℃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100  $\mu$ l-1 ml血液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。整个过程不涉及有机试剂，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。

使用本试剂盒纯化的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、荧光定量PCR、文库构建、Southern杂交，芯片检测、高通量测序等实验。

## 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/氯仿等有机试剂

**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。

## 提取得率

样本	提取量( $\mu$ l)	DNA得率( $\mu$ g)
新鲜血液	100-250	4-8
	250-1000	8-25
脐带血	100-250	4-10
陈旧血液	100-250	3-6

## 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. 最适上样量：建议血液上样量为100-250  $\mu$ l最佳，如果要从250  $\mu$ l-1 ml的血液中提取基因组，需自备细胞裂解液CL（TIANGEN, RK151）和缓冲液GS（TIANGEN, RK152）。
4. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
5. 若裂解液GHL中有沉淀，可在37 $^{\circ}$ 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GDA和漂洗液PWD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. 取200  $\mu\text{l}$ 血液样品至2 ml离心管（自备）中。

**注意：**本试剂盒可从100  $\mu\text{l}$ -1 ml血液中分离纯化高质量基因组DNA。

**当血液样品处理量为100-250  $\mu\text{l}$ 时：**按下表加入裂解液和异丙醇用量。

血液起始量	裂解液用量	异丙醇用量
100 $\mu\text{l}$	150 $\mu\text{l}$	200 $\mu\text{l}$
150 $\mu\text{l}$	250 $\mu\text{l}$	320 $\mu\text{l}$
200 $\mu\text{l}$	300 $\mu\text{l}$	350 $\mu\text{l}$
250 $\mu\text{l}$	300 $\mu\text{l}$	350 $\mu\text{l}$

**当血液样品处理量为250  $\mu\text{l}$ -1 ml时：**需细胞裂解液CL(TIANGEN, RK151) (自备) 处理，具体步骤如下：在样品中加入1-2.5倍血液样品体积的细胞裂解液CL，颠倒混匀，10,000 rpm ( $\sim 11,500 \times g$ )离心1 min，吸去上清，留下细胞核沉淀(如果裂解不彻底，可加入1-2.5倍血液样品体积的细胞裂解液CL重复裂解一次)，向细胞核沉淀中加50  $\mu\text{l}$ 缓冲液GS(TIANGEN, RK152) (自备)，振荡至彻底混匀，再进行下一步实验。

2. 加入20  $\mu\text{l}$  Proteinase K溶液。
3. 加入300  $\mu\text{l}$ 裂解液GHL，振荡混匀。

**注意：**当样本数目比较大时，可以按每300  $\mu\text{l}$ 裂解液GHL加入20  $\mu\text{l}$  Proteinase K的比例预先混合，混合后每个样本用量为320  $\mu\text{l}$ ，混合后的溶液室温放置不要超过1 h，最好现用现配。

4. 将离心管置于65 $^{\circ}\text{C}$ ，孵育15 min，期间颠倒混匀3回，每回3-5次。
5. 室温放置5 min。
6. 加入350  $\mu\text{l}$ 异丙醇，振荡混匀10 sec。
7. 加入20  $\mu\text{l}$ 磁珠悬浮液G，振荡混匀1 min，共静置9 min，每3 min振荡混匀1 min。

**注意：**为了确保磁珠彻底重悬，请在使用前振荡混匀。

- 
8. 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。
  9. 将离心管从磁力架上取下, 加入700  $\mu$ l缓冲液GDA (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 振荡混匀5 min。
  10. 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。  
**注意: 如果对于DNA纯度要求更高, 可以重复步骤9和10一次。**
  11. 将离心管从磁力架上取下, 加入700  $\mu$ l漂洗液PWD (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 振荡混匀2 min。
  12. 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。
  13. 重复步骤11和12一次。
  14. 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。**
  15. 将离心管从磁力架上取下, 加入50-100  $\mu$ l洗脱缓冲液TB, 振荡混匀, 置于56 $^{\circ}$ C, 孵育10 min, 期间颠倒混匀3回, 每回3-5次。
  16. 将离心管放置于磁力架上静置2 min, 磁珠完全吸附后, 小心将DNA溶液转移至一个新离心管中, 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. 裂解液和Proteinase K混合液的配制: 按照300  $\mu\text{l}$  裂解液GHL加入20  $\mu\text{l}$  Proteinase K的比例预先混合, 混合后每个样本用量为320  $\mu\text{l}$ 。混合后的溶液室温放置不要超过一个小时, 最好现用现配。
3. 磁珠稀释液的配制: 按照20  $\mu\text{l}$  磁珠悬浮液G加入80  $\mu\text{l}$  异丙醇的比例混合, 混合后每个样本用量为100  $\mu\text{l}$ 。
4. 对于Hamilton Microlab STAR类的仪器, 有放置2 ml离心管的板位, 可以不使用异丙醇来稀释磁珠, 异丙醇的加入体积仍为350  $\mu\text{l}$ 。每个离心管可以放入1 ml左右的磁珠, 吸取磁珠前吹打混匀5次, 直接进行20  $\mu\text{l}$ 磁珠的分液操作, 分液完成后将磁珠管盖盖好保存。
5. 对于DNA含量高的脐带血或者是经过细胞裂解液CL处理后的较大体积的起始血样, 建议血液裂解后加入异丙醇吹打混匀5次以后, 再加入磁珠进行混匀, 避免磁珠聚集后不易进行充分的漂洗。
6. 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 $^{\circ}\text{C}$ 。
7. 如果超出仪器吸取废液时的最大体积, 可以适当降低裂解液体积至250  $\mu\text{l}$ 。

### 提取步骤:

1. 在96深孔板(自备)中加入200  $\mu\text{l}$ 血液样本(若为冻存血, 请待完全解冻后再进行)。
2. 每孔加入320  $\mu\text{l}$ 裂解液GHL和Proteinase K的混合液。
3. 将深孔板置于75 $^{\circ}\text{C}$ , 孵育15 min, 一直振荡混匀。
4. 将加热模块温度调至25 $^{\circ}\text{C}$ , 继续振荡5 min。
5. 每孔加入270  $\mu\text{l}$ 的异丙醇, 吹吸6次, 然后振荡混匀5 min。
6. 每孔加入100  $\mu\text{l}$ 磁珠稀释液, 吹吸6次, 然后振荡混匀10 min。
7. 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。

- 
8. 将深孔板从磁力架上取下，加入100  $\mu$ l缓冲液GDA，振荡混匀2 min。然后再加入600  $\mu$ l缓冲液GDA，吹吸6次，然后振荡混匀2 min。
  9. 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。  
**注意：如果对于DNA纯度要求更高，可以重复步骤8和9一次。**
  10. 将深孔板从磁力架上取下，加入100  $\mu$ l漂洗液PWD，振荡混匀1 min。然后加入600  $\mu$ l漂洗液PWD，吹吸6次，然后振荡混匀2 min。
  11. 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。
  12. 重复步骤10和11一次。
  13. 将深孔板置于磁力架上，37 $^{\circ}$ C晾干5 min。
  14. 将深孔板从磁力架上取下，加入50-100  $\mu$ l洗脱缓冲液TB，置于65 $^{\circ}$ C，振荡混匀10 min。
  15. 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：

1. 本产品既可整合 Thermo KingFisher Flex 等有加热装置的磁棒法自动化仪器进行高通量血液基因组提取工作，也适用于 Taco 等没有加热装置的磁棒法自动化仪器。
2. 裂解液和 Proteinase K 混合液的配制：按照 300  $\mu\text{l}$  裂解液 GHL 加入 20  $\mu\text{l}$  Proteinase K 的比例预先混合，混合后每个样本用量为 320  $\mu\text{l}$ 。混合后的溶液室温放置不要超过 1 h，最好现用现配。
3. 将 700  $\mu\text{l}$  缓冲液 GDA、700  $\mu\text{l}$  漂洗液 PWD 和 50-100  $\mu\text{l}$  洗脱缓冲液 TB 分别加到 96 孔板相应的位置上，将 20  $\mu\text{l}$  磁珠 G 加入到 700  $\mu\text{l}$  缓冲液 GDA 中。
4. 使用磁棒法仪器也可以按照移液法仪器的操作步骤，需要裂解步骤完成后，设置暂停步骤再加入异丙醇。

#### 提取步骤：

1. 在 96 深孔板（自备）中加入 200  $\mu\text{l}$  血液样本（若为冻存血，请待完全解冻后再进行）。
2. 每孔加入 320  $\mu\text{l}$  裂解液 GHL 和 Proteinase K 混合液。
3. 将 96 孔板置于自动化提取仪中，75 $^{\circ}\text{C}$  孵育 15 min，期间中速和快速间隔拍打混匀。
4. 仪器暂停后，每孔加入 350  $\mu\text{l}$  异丙醇，快速拍打混匀 5 min。
5. 使用磁力套深入到含有磁珠的缓冲液 GDA 的孔中，快速拍打混匀 1 min，吹散磁珠。
6. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。
7. 将磁珠转移到含有血液和裂解液 GHL 的孔中，释放磁珠，中速和快速间隔拍打混匀 10 min。
8. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。
9. 将磁珠转移到含有第一遍缓冲液 GDA 的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀 3 min。
10. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。
11. 将磁珠转移到含有第二遍缓冲液 GDA 的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀 3 min。
12. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。

- 
13. 将磁珠转移到含有第一遍漂洗液PWD的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。
  14. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
  15. 将磁珠转移到含有第二遍漂洗液PWD的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。
  16. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
  17. 磁力棒吸附磁珠后悬空晾干 5 min。
  18. 将磁珠转移到含有洗脱缓冲液TB的孔中，75°C 孵育，快速拍打混匀10 min。
  19. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次30 sec。
  20. 将吸附的废弃磁珠转移到含有漂洗液PWD的孔中，拍打混匀1 min。
  21. 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OD<sub>260</sub>处有显著吸收峰，OD<sub>260</sub>值为1相当于大约50 µg/ml双链DNA、40 µg/ml单链DNA。

OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>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。