

版本号: DP170502

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℃) 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

1. 简便快捷：1 h内即可获得超纯的基因组DNA。
2. 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
3. 安全无毒：无需酚/氯仿等试剂
4. 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. 如果仪器不能精确进行10 μl 磁珠悬浮液G的分液，可以加入40 μl 异丙醇的进行混合，混合后每个样本用量为50 μl 。
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 $^{\circ}\text{C}$ 。

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 μl 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 μl 磁珠悬浮液G或50 μl 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 μl 去蛋白液PD，振荡混匀2 min。然后再加入600 μl 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. 将深孔板从磁力架上取下，加入500 μl 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 μl 漂洗液PWB，振荡混匀1 min。然后加入600 μl 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 $^{\circ}\text{C}$ 晾干5 min。
12. 将深孔板从磁力架上取下，加入50-100 μl 洗脱缓冲液TBC，置于65 $^{\circ}\text{C}$ ，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秒。
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秒。
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秒。
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秒。

-
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秒。
 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℃，拍打混匀12 min。然后吸附磁珠5次，每次20秒。
 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