

## 磁珠法血液 DNA 提取试剂盒说明书

### 产品组成

磁珠法血液 DNA 提取试剂盒	100 次制备
Cat. No.	3012100
磁珠	4.5 ml
Buffer LC	65 ml
Buffer WM	90 ml
Buffer WA (浓缩液)	45ml
Buffer WB (浓缩液)	30 ml
Buffer TE	12 ml
说明书	1 份

### 产品储存

产品可常温 (0~30℃) 运输、贮存，有效期为两年。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: [technical@simgen.cn](mailto:technical@simgen.cn), 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

本产品适合从 200  $\mu$ l 新鲜的或者是冷冻贮藏的抗凝全血中分离纯化总 DNA。试剂盒提供的试剂可手动提取 DNA，或者预先分装到 2.2 ml 的 96 深孔板中，配合核酸自动化提取仪提取 DNA。当配合核酸自动化提取仪使用时，只需在装有 Buffer LC 的孔中加入血样，即可由仪器自动化完成血液 DNA 的释放、吸附、洗涤及洗脱等一系列过程，最后获得的 DNA 溶解在 Buffer TE 中，并可立即用于各种分子生物学实验。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管或 96 深孔板 (2.2 ml)，如果用户需要预分装好试剂的 96 深孔板及磁棒套，请另购产品序号为 3012064 的预分装磁珠法血液 DNA 试剂盒
3. 移液器吸头 (为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头)
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 磁力架或者磁珠法核酸自动化提取仪，水浴锅

### 使用前准备

1. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。
2. 手动法提取 DNA 请将水浴锅温度设置到 60℃，并将 Buffer TE 在水浴锅中预热。

## 手动法提取 DNA：

1. 在 1.5 ml 离心管加入 600  $\mu$ l Buffer LC，再加入 200  $\mu$ l 抗凝全血，旋涡震荡混合均匀。
2. 用力摇晃装有磁珠的试剂瓶使溶液中的磁珠被充分悬浮，然后加 40  $\mu$ l 磁珠到步骤 1 的 1.5ml 离心管中，剧烈旋涡振荡 10 分钟。
  - \* 必须旋涡振荡 10 分钟，否则会因为血液裂解不充分导致磁珠无法充分吸附裂解产物中的 DNA。
  - \* 可以在样品均质仪上用最高速混匀 10 分钟替代剧烈旋涡震荡。
  - \* 必须充分悬浮试剂瓶中的磁珠，否则会由于加入的磁珠用量不足而影响 DNA 的吸附效率。
3. 将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
  - \* 可低速离心数秒使 1.5 ml 离心管管盖上的残留液体汇集到离心管中后再放入磁力架。
4. 在离心管中加入 800  $\mu$ l Buffer WM，旋涡振荡 1~3 分钟混匀。将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
  - \* 加入 Buffer WM 后延长旋涡振荡的时间可以提升蛋白杂质的去除效果。
  - \* 可低速离心数秒使 1.5 ml 离心管管盖上的残留液体汇集到离心管中后再放入磁力架。
5. 在离心管中加入 800  $\mu$ l Buffer WA，旋涡振荡 1~3 分钟混匀。将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
  - \* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。
  - \* 加入 Buffer WA 后延长旋涡振荡的时间可以提升蛋白杂质的去除效果。
  - \* 可低速离心数秒使 1.5 ml 离心管管盖上的残留液体汇集到离心管中后再放入磁力架。
6. 在离心管中加入 800  $\mu$ l Buffer WB，旋涡振荡 1~2 分钟混匀。将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
  - \* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。
7. 在离心管中加入 1ml Buffer 无水乙醇，旋涡振荡 1~2 分钟混匀。将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上，吸弃离心管中溶液，保留离心管管壁上的磁珠。
8. 低速离心数秒使离心管中的残留液体汇集到离心管底部，用 200  $\mu$ l 移液器仔细吸弃残留在离心管中的洗液，保留离心管管壁上的磁珠，室温静置 10 分钟晾干磁珠。
9. 在磁珠上加入 100  $\mu$ l Buffer TE，盖上管盖，旋涡振荡数秒，60 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟。
  - \* 水浴期间每隔 2~3 分钟旋涡震荡数秒可提高 DNA 的洗脱效率。
10. 将 1.5 ml 离心管放入磁力架，静置片刻，待磁珠全部吸附到离心管管壁上。吸取 DNA 溶液，转移到一个洁净的 1.5 ml 离心管中，获得的 DNA 可立即使用，或者储存于 - 20 $^{\circ}$ C 备用。
  - \* 采用仪器法提取 DNA 可提高最终 DNA 的纯度和产量。

## 磁珠仪器法提取 DNA：

### 1. 按步骤 A~F 在 96 孔板中预分装试剂：

- A. 在 96 深孔板第 1 列和第 7 列每孔加入 600  $\mu$ l Buffer LC；
- B. 在 96 深孔板第 2 列和第 8 列每孔加入 800  $\mu$ l Buffer WM；
- C. 在 96 深孔板第 3 列和第 9 列每孔加入 800  $\mu$ l Buffer WA；
- D. 在 96 深孔板第 4 列和第 10 列每孔加入 800  $\mu$ l Buffer WB；
- E. 用力摇晃装有磁珠的试剂瓶，使缓冲液中的磁珠颗粒充分悬浮，先在 96 深孔板第 5 列和第 11 列每孔加入 40  $\mu$ l 磁珠后，再加入 860  $\mu$ l 无水乙醇；
- F. 在 96 深孔板第 6 列和第 12 列每孔加入 100  $\mu$ l Buffer TE；

**！注意：试剂分装完成后，应立即进行血液 DNA 的提取，否则 Buffer WA, Buffer WB 中的乙醇可能挥发，导致最终提取的 DNA 纯度降低。**

**2. 在已分装好试剂的 96 深孔板中的第 1 列和第 7 列各孔中加入 200  $\mu$ l 抗凝全血，将 96 深孔板放入核酸自动化提取仪中。**

**按下图步骤设置核酸自动纯化仪中的程序：**

步骤	孔位	液量 ( $\mu$ L)	浸泡 (秒)	搅拌强度 (级)	搅拌时间 (秒)	下降吸磁 (秒)	液底吸磁 (秒)	吸磁次数 (次)	等待时间 (秒)	暂停 关/开	板1裂解 ( $^{\circ}$ C)	板1洗脱 ( $^{\circ}$ C)	板2裂解 ( $^{\circ}$ C)	板2洗脱 ( $^{\circ}$ C)
1~99	1~6	20~1200	0~255	1~6	0~9999	5~600	0~255	0~255	0~9999	0/1	0~125	0~125	0~125	0~125
1	5	900	0	1	0	30	3	1	0	0	0	0	0	0
2	1	800	0	5	600	60	3	2	0	0	25	0	25	0
3	2	800	0	6	180	60	3	1	0	0	0	0	0	0
4	3	800	0	6	180	30	3	1	0	0	0	0	0	0
5	4	800	0	6	120	30	3	1	0	0	0	0	0	0
6	5	900	0	6	120	30	3	1	600	0	0	0	0	0
7	6	100	0	5	600	60	60	2	0	0	0	60	0	60
8	1	800	0	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0

\* 上述程序是根据本公司的核酸自动提取仪（Cat. No. Sim-300）设计，如果用于其他公司仪器，请根据仪器特点适当调整程序中的各个参数，或者拨打 400-0099-857 电话获取技术支持。

**3. 收集转移 6 列和第 12 列中的 DNA 到洁净的离心管中；或直接用封口膜封住 96 深孔板，储存到-20 $^{\circ}$ C 备用。**