

SteadyPure Mag 血液基因组 DNA 提取试剂盒 (磁珠法)

SteadyPure Mag Blood Genomic DNA Extraction Kit

Code No. AG21201

包装量: 50 rxns
保存温度: Package 3-1 : -20°C
 Package 3-2 : 4°C
 Package 3-3 : 室温 (15 ~ 25°C)

➤ 产品概述

本试剂盒是基于高结合力超顺磁性磁珠的血液基因组 DNA 纯化试剂盒,旨在给客户提供一种快速、简单、高质量的血液基因组 DNA (gDNA) 制备方法。配合使用独特的缓冲液系统,可从含有各种抗凝剂的血液、浓缩血液等生物样品中提取得到高收量、高纯度的 gDNA,提取过程无需酚氯仿抽提及乙醇沉淀,更安全和方便;既可用于单管手工法提取,又可用于高通量手工法提取和 workstation 提取。提取得到的 gDNA 可直接用于 PCR 扩增、DNA 序列分析、芯片检测、文库构建等实验。

➤ 原理

SteadyPure Mag 血液基因组 DNA 提取试剂盒 (磁珠法) 采用独特的裂解系统裂解消化样本,样本裂解完全后释放出 DNA。磁珠是以 Fe_3O_4 / Fe_2O_3 为基质的超顺磁性粒子,外部包埋能特异性结合 DNA 的基团,在高浓度离子化试剂条件下,加入结合液及磁珠,磁珠可通过氢键及静电作用特异性的吸附 DNA,而不吸附蛋白与其他杂质;吸附了 DNA 的磁珠经洗涤液洗涤去除蛋白质、盐分及其他杂质,最后用低盐碱性洗脱液或水洗脱 DNA,得到高质量的 gDNA。

➤ 产品特点

1. 安全无毒: 无需酚/氯仿等有机溶剂
2. 高通量: 可进行 96 孔板高通量及自动移液 workstation 操作
3. 高品质: 提取得到的 gDNA 收量高、完整性好、纯度高

➤ 产品组成^{*1}

RNase A Solution (10 mg/ml)	1 ml
Proteinase K	24 mg
1X Proteinase K Buffer	1.5 ml
Mag Buffer AL	15 ml
Mag Buffer BD ^{*2}	5 ml
Mag Buffer DWA ^{*3}	44 ml
Mag Elution Buffer	8 ml
RNase free water for 70% ethanol ^{*4}	18 ml
MagPure DNA Beads	1 ml

*1: 组分中 RNase A Solution、Proteinase K、1X Proteinase K Buffer 包装于 Package 3-1 中,需放置于 -20°C 保存; MagPure DNA Beads 包装于 Package 3-2,需 4°C 保存;其余组分均包装于 Package 3-3 中,室温 (15 ~ 25°C) 保存。

*2: Mag Buffer BD 在首次使用前,请添加 20 ml 的 100% 乙醇,混合均匀后在瓶子上做好标记,室温下保存。

*3: Mag Buffer DWA 在首次使用前,请添加 56 ml 的 100% 乙醇,混合均匀后在瓶子上做好标记,室温下保存。

*4: RNase free water for 70% ethanol 在首次使用前,请添加 42 ml 的 100% 乙醇,配成 70% 的乙醇,混合均匀后在瓶子上做好标记,室温下保存。

保存及运输

- 保存温度：** Package 3-1 -20°C 保存；
 Package 3-2 4°C 保存；
 Package 3-3 室温（15-25°C）保存。

- 运输温度：** Package 3-1 干冰或 -20°C 冰袋运输；
 Package 3-2 室温运输；
 Package 3-3 室温运输。

实验前准备

1. 无水乙醇、PBS、灭菌水、1.5 ml 离心管、水浴锅、封口膜、磁力架或高通量设备。
2. 溶解 Proteinase K (20 mg/ml)：加入1.2 ml 1 X Proteinase K Buffer 至 Proteinase K 干粉中至终浓度为 20 mg/ml，轻轻颠倒混匀，让 Proteinase K 干粉充分溶解，短暂离心后使用。溶解后的 Proteinase K -20°C 保存。
3. 70% 乙醇配制：向 RNase free water for 70% ethanol 中加入 42 ml 100% 乙醇，盖上瓶盖，颠倒混匀。在瓶子上做好标记，室温保存。

注意事项

1. 应尽量使用新鲜全血，并避免反复冻融以确保提取 DNA 的收量及品质。血液样本如需长期保存，请放置于 -80°C。冻存样本在进行裂解操作前，需要完全融化（4°C 或者室温下融化），融化期间可进行涡旋振荡混匀。
2. 血液样本若出现血凝块，用移液枪吹打混匀后再进行裂解。
3. 基因组 DNA 需长期保存时，建议用 Mag Elution Buffer 溶出。
4. 按说明书要求加入正确量的无水乙醇。
5. 使用 MagPure DNA Beads 前需充分振荡混匀 2~3 分钟，使其充分悬浮。
6. 因磁力架磁力会有不同，静置使磁珠完全吸附于离心管壁的时间可根据磁力架进行调整。

操作流程

手工法提取

1. 在 1.5 ml 离心管中将 200 μ l 混合均匀的样品与 200 μ l Mag Buffer AL、20 μ l Proteinase K 混合，立即高速涡旋振荡或剧烈颠倒混匀约 30 秒，以确保反应液充分混匀。
【注：本试剂盒适合从 1~10 μ l 有核血液或 10~200 μ l 无核血液中提取 gDNA，若样品不足 200 μ l，用 PBS 或灭菌水补足总体积至 200 μ l。】
2. 70°C 孵育 10 分钟，期间颠倒混匀，使样本充分裂解，若样本未裂解充分，可适当延长裂解时间。
3. 加入 20 μ l RNase A Solution，振荡混匀，室温放置 5~10 分钟，以去除 RNA。
4. 向上述裂解液中加入 400 μ l Mag Buffer BD 和 20 μ l MagPure DNA Beads，立即高速涡旋振荡或剧烈颠倒混匀约 30 秒，以确保磁珠与 DNA 能够充分结合；室温静置 5 分钟，期间每隔 1 分钟上下颠倒混匀 10 次，始终使管内磁珠分布均匀。
【注：请确认 Mag Buffer BD 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。】
5. 将离心管置于磁力架，颠倒混匀，以避免磁珠残留于管盖。静置约 2 分钟至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。
6. 移去磁力架，加入 600 μ l Mag Buffer DWA，立即涡旋振荡或颠倒混匀约 30 秒以确保洗涤充分，将离心管置于磁力架，颠倒混匀，以避免磁珠残留于管盖，静置约 2 分钟至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。
【注：请确认 Mag Buffer DWA 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。】
7. 重复步骤 6。
8. 移去磁力架，加入 550 μ l 70% 乙醇，立即涡旋振荡或颠倒混匀约 30 秒以确保洗涤充分。将离心管置于磁力架，颠倒混匀，以避免磁珠残留于管盖。静置约 2 分钟至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。
【注：请确认 RNase free water for 70% ethanol 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。】
9. 重复步骤 8。

10. 用桌面离心机短暂离心，将离心管转移至磁力架上，静置约 2 分钟直至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内残留液体。
【注：务必吸尽离心管内残留液体，可以多次吸取液体，但不能将磁珠吸出。】
11. 打开管盖，室温干燥 3 ~ 5 分钟，至磁珠表面无明显液体。
12. 移去磁力架，加入 50 ~ 100 μ l Mag Elution Buffer，涡旋 10 ~ 15 次（溶液完全涡旋振荡、磁珠分布均匀算作一次），60°C 孵育 10 分钟，期间每隔 1 分钟，左右摇晃离心管 10 ~ 15 次（切勿颠倒），使管内磁珠始终保持均匀分布的状态。
13. 用桌面离心机短暂离心，将离心管置于磁力架上，静置约 5 分钟直至磁珠全部吸附到管壁，吸取上清到干净离心管中，此为纯化后的 DNA 溶液。短期保存放置于 -20°C，长期保存请放置于 -80°C。

96孔板高通量手工提取

注意：此方法中振荡混匀的时间及速度，可根据仪器进行调整使溶液和磁珠达到最佳混匀效果；同时要避免振荡过程中液体溢出孔口。

1. 在 96 深孔板中将 200 μ l 混合均匀的样品与 200 μ l Mag Buffer AL、20 μ l Proteinase K、20 μ l *MagPure* DNA Beads 混合。
【注：本试剂盒适合从 1 ~ 10 μ l 有核血液或 10 ~ 200 μ l 无核血液中提取 gDNA，若样品不足 200 μ l，用 PBS 或灭菌水补足总体积至 200 μ l。】
2. 贴上封口膜，1,000 ~ 1,400 rpm 振荡混匀约 3 分钟。
3. 70°C 孵育 10 分钟，期间振荡混匀，使样本充分裂解。
4. 短暂离心收集管壁上的液滴。撕去封口膜，加入 20 μ l RNase A Solution，振荡混匀，室温放置 5 ~ 10 分钟，以去除 RNA。
5. 加入 400 μ l Mag Buffer BD 至溶液中，1000 ~ 1,200 rpm 振荡混匀约 3 分钟。
【注：请确认 Mag Buffer BD 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。】
6. 将 96 深孔板置于磁力板，静置约 3 分钟，至磁珠全部吸附到管底；将 96 深孔板与磁力板紧扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于干净的吸水纸上 1 分钟吸尽残液。
7. 移去磁力板，加入 600 μ l Mag Buffer DWA 至 96 深孔中。1,000 ~ 1,200 rpm 振荡混匀约 2 分钟打散磁珠。
【注：请确认 Mag Buffer DWA 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。】
8. 将 96 深孔板置于磁力板，静置约 3 分钟，至磁珠全部吸附到管底；将 96 深孔板与磁力板紧扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于干净的吸水纸上 1 分钟吸尽残液。
9. 重复步骤 7 ~ 8。
10. 移去磁力板，加入 550 μ l 70% 乙醇至 96 深孔中。1,000~1,200 rpm 振荡混匀约 2 分钟打散磁珠。
【注：请确认 RNase free water for 70% ethanol 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。】
11. 将 96 深孔板置于磁力板，静置约 3 分钟，至磁珠全部吸附到管底；将 96 深孔板与磁力板紧扣在一起，反转 180 度倒弃废液，然后反扣于干净的吸水纸上 1 分钟吸尽残液。
12. 重复步骤 10 ~ 11；在反扣于干净的吸水纸上吸尽残液时，时间延长至 5 分钟。
13. 将 96 深孔板置于磁力板上，室温干燥 10 ~ 15 分钟（也可根据需要将干燥时温度调整为 37 ~ 50°C）。
14. 移去磁力板，加入 50 ~ 100 μ l 预热到 60°C 的 Mag Elution Buffer，1,000 rpm 振荡混匀 10 分钟。
【注：可将 Mag Elution Buffer 进行 70°C 预热后使用，以提高收量。】
15. 转移 96 深孔板至磁力板上静置约 3 分钟，至磁珠全部吸附到管底，吸取上清到干净的 96 孔板中，此为纯化后的 DNA 溶液。短期保存放置于 -20°C，长期保存请放置于 -80°C。

移液工作站流程设计

实验流程可根据工作站自行设计。