

SteadyPure Mag 血液基因组DNA提取试剂盒（磁珠法）

SteadyPure Mag Blood Genomic DNA Extraction Kit (Magnetic Beads)

Code No. AG21208

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 ~ 30°C)

➤ 产品概述

本产品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，基于高结合力超顺磁性磁珠和独特的缓冲液系统，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，使用本产品提取获得的 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。同时，本产品既可用于单管手工法提取，也可配合全自动核酸提取仪使用，实现核酸的高通量提取。

➤ 安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

【注意：使用后溶液需要收集在废液桶中专门处理。】

如果 Mag Buffer BLS 或 Mag Buffer DWA 不小心溅出，请立刻用清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

➤ 产品组成*1

RNase A Solution (10 mg/ml)	1 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	1 ml
MagPure DNA Beads*2	1 ml
Mag Buffer BLS*3	15 ml
Mag Buffer DWA*4	16 ml
RNase free water for 70% ethanol*5	21 ml
Mag Elution Buffer	10 ml
RNase Free Water*6	10 ml

*1: 组分中 RNase A Solution (10 mg/ml) 和 Proteinase K (20 mg/ml) 包装于 Package 3-1 中，放置于 -20°C 保存；组分中 MagPure DNA Beads 包装于 Package 3-2，放置于 4°C 保存；其余组分均包装于 Package 3-3 中，室温 (15 ~ 30°C) 保存。

*2: MagPure DNA Beads 避免冻存或使其干裂，每次取用前应涡旋振荡混匀使其充分悬浮，否则可能会导致吸取磁珠的量不一致从而影响磁珠结合 DNA 的能力。

*3: Mag Buffer BLS 若出现沉淀，请于 50-60°C 加热溶解，待溶液恢复至室温后使用。

*4: Mag Buffer DWA 在首次使用前，请添加 24 ml 的无水乙醇 (Mag Buffer DWA 与无水醇体积比为 2 : 3)，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

*5: RNase free water for 70% ethanol 在首次使用前，请添加 49 ml 的无水乙醇 (RNase free water for 70% ethanol 与无水醇体积比为 3 : 7)，配成 70% 的乙醇，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

*6: RNase Free Water 开启后建议保存于 -20°C 。



➤ 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（15-30°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. 自备：异丙醇、无水乙醇、PBS、灭菌水、1.5 ml 离心管、水浴锅、磁力架或 96 深孔板、高通量设备。
2. *Mag Buffer DWA* 在首次使用前，请添加 24 ml 的无水乙醇（*Mag Buffer DWA* 与无水醇体积比为 2 : 3），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。
3. 70% 乙醇配制：向 RNase free water for 70% ethanol 中加入 49 ml 的无水乙醇（RNase free water for 70% ethanol 与无水醇体积比为 3 : 7），盖上瓶盖，颠倒混匀。在瓶子上做好标记，室温下保存。

➤ 注意事项

1. 本产品既可用于单管手工法提取，也可配合全自动核酸提取仪使用，实现核酸的高通量提取。如果配合全自动核酸提取仪使用，可能需要根据实际情况对自动提取的程序进行调整。
2. *MagPure DNA Beads* 切勿冻存或使其干裂，否则可能会出现磁珠团聚、官能团脱落、磁珠形态发生变化等问题，影响磁珠结合 DNA 的能力。
3. 用移液器吸取上清液时，应注意不要触碰磁珠，避免磁珠的损失，从而影响 DNA 的收量。
4. 一般情况下，磁性分离 1 min 可使磁珠与 Buffer 彻底分离，但不同磁力架的磁力会有所不同，磁性分离的时间可根据实际情况进行调整，以确保磁珠完全吸附于离心管壁，与 Buffer 彻底分离。
5. 操作过程中，用移液器将上清液吸取完全后，应尽快进行后续操作，避免磁珠长时间暴露于空气中，导致磁珠干裂。
6. 磁珠开盖晾干时要避免过分干燥，否则可能会出现磁珠干裂，从而影响 DNA 的回收效率。
7. 转移洗脱液时建议保留 2~3 μ l 液体，以免吸取到磁珠影响后续实验。
8. 应尽量使用新鲜的实验材料，以确保样品中的基因组 DNA 不被降解。
9. 本产品说明书推荐的最适上样量能满足大部分的样品，但对于核酸含量过高或核酸含量过低的样品，可根据需要减少或增加样品起始量。

➤ 操作流程

样品裂解步骤

1. 在 1.5 ml 离心管中将 200 μ l 混合均匀的血液样品与 20 μ l Proteinase K 混合，立即高速涡旋振荡混匀约 30 秒，以确保混合液充分混匀。
【注：本产品适合从 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. 向上述混合液中加入 200 μ l 的 *Mag Buffer BLS*，立即高速涡旋振荡混匀约 2min，以确保样品充分混匀。
3. 将上述混合液 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。
4. 向上述裂解液中加入 20 μ l RNase A Solution，振荡混匀，室温放置 5~10 分钟，以去除 RNA。
5. 向上述裂解液中加入 0.8 倍裂解液体积的异丙醇，立即高速涡旋振荡混匀约 30 秒，以确保磁珠与 DNA 能够充分结合，观察溶液的粘稠度，若溶液呈均一流动状，可直接进行后续操作；若溶液呈粘液状，此时需高速涡旋混匀或用移液枪吹打混匀至均一流动状。**混合后的溶液称为裂解结合液，获得的裂解结合液可按照“手工法提取”或“全自动核酸提取仪提取”。**

> 操作流程

手工法提取

1. 向上述裂解结合液中加入 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。
2. 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。
3. 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无水乙醇。】
4. 移去磁力架, 加入 600 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无水乙醇。】
5. 重复步骤 4 一次。
6. 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。
7. 打开管盖, 室温干燥 3 ~ 5 分钟, 至磁珠表面无明显液体。
【注: 磁珠开盖晾干时要避免过分干燥, 否则可能会出现磁珠干裂, 从而影响 DNA 的回收效率】
8. 移去磁力架, 加入 50 ~ 100 μ l *Mag Elution Buffer*, 涡旋 10 ~ 15 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。
【注: *Mag Elution Buffer* 的添加量可根据实际需求的 DNA 浓度调整, 若需求较高浓度的 DNA, 可适当降低 *Mag Elution Buffer* 的添加量 (例: 10 ~ 50 μ l) 。】
9. 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。洗脱获得的 DNA 产物可直接用于后续检测或放入 -20°C 中保存。
【注: 转移洗脱液时建议保留 2~3 μ l 液体, 以免吸取到磁珠影响后续实验。】

全自动核酸提取仪提取

1. 将瓶装试剂按照下表分装至 96 深孔板（自备）对应的孔中。

位置（列）	试剂名称	加入量（ μ l）
1/7	裂解结合液 ^{*1}	750 ^{*1}
2/8	MagPure DNA Beads ^{*2}	20
2/8	RNase Free Water	100
3/9	Mag Buffer DWA ^{*3}	600
4/10	RNase free water for 70% ethanol ^{*3}	600
5/11	RNase free water for 70% ethanol ^{*3}	600
6/12	Mag Elution Buffer	50-100

*1: 裂解结合液为“样本裂解步骤 5”中的混合液，可能有絮状沉淀产生，需将溶液及沉淀全量转移至孔板中，体积约 750 μ l。

*2: 取用前应涡旋振荡混匀使其充分悬浮，否则可能会导致吸取磁珠的量不一致从而影响磁珠结合 DNA 的能力。

*3: 请确认 Mag Buffer DWA 和 RNase free water for 70% ethanol 中已经加入了指定体积的无水乙醇。

2. 参考自动提取仪的操作方法，正确放置 96 深孔板和磁棒套。
3. 启动全自动核酸提取仪的程序，具体程序如下：

核酸提取仪提取核酸程序

序号	列	混匀时间	磁吸时间	等待时间	设置温度	体系（ μ l）	速度	工作内容
1	1/7	2 分钟	0	0	室温	750	中	混匀裂解
2	2/8	1 分钟	90 秒	0	室温	120	中	混匀吸磁
3	1/7	2 分钟	120 秒	0	室温	800	中	结合
4	3/9	1 分钟	90 秒	0	室温	600	中	洗涤
5	4/10	1 分钟	90 秒	0	室温	600	中	洗涤
6	5/11	1 分钟	90 秒	0	室温	600	中	洗涤
7	6/12	3 分钟	120 秒	2 分钟	60°C	50-100	中	洗脱 DNA
8	5/11	1 分钟	0	0	室温	600	中	弃磁

4. 结束程序后，取出 96 深孔板和磁棒套。
5. 转移第 6/12 列中的 DNA 洗脱液至新的 1.5 ml 离心管中，获得的 DNA 可直接用于后续检测或放入 -20°C 中保存。