



GenePharma

磁珠法基因组DNA 提取试剂盒 (全血)

B015-V001A-20200323

Magnetic Genomic DNA Kit (blood)

产品简介

本试剂盒采用具有独特分离作用的超顺磁珠和独特的缓冲液系统，从血液中分离纯化高质量基因组DNA。样品中的DNA在裂解液和蛋白酶K的作用下被释放出来，特异性结合在特殊包被的超顺磁珠上，在外加磁场的吸附下，轻松完成对核酸的吸附固定，通过4次的洗涤过程将污染物除去，最后在洗脱液的作用下DNA从磁珠上被洗下而被收集。整个过程不涉及有机试剂和高盐溶液，不带来抑制物，不需要离心，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，包括测序、酶切、PCR、文库构建、Southern杂交、SNPs等实验。

试剂盒组成

产品组成	24 rxns	48 rxns	96 rxns
Proteinase K	0.5ml	1ml	2ml
buffer BGL	5 ml	10ml	20ml
Megbeads	0.8ml	1.5ml	3ml
Buffer BGW 0	25ml	50ml	100ml
Buffer BGW I	20 ml	40ml	80ml
Buffer EB	2.5ml	5ml	10ml

保存条件

Proteinase K : -20°C; Megbeads: 4°C;

其它组分: 室温, 可稳定保存12 个月

适用范围

全血: 20 μL-2mL;

注意事项

- ◆ 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；
- ◆ 需要自备材料：无菌水、异丙醇、磁铁或磁架、1.5 ml离心管(最好低吸附的离心管)；需要去除RNA自备RNase A，在蛋白酶K消化这一步加入4 μl RNase A (100 mg/ml)；PBS。
- ◆ 已加入抗凝剂的血液样品可在2-8°C储存不超过3天（推荐使用EDTA作为抗凝剂），长期贮存请置于-70°C；
- ◆ 整个过程请勿离心，以免磁珠不可逆聚集而影响提取效果。



实验准备

- ◆ 冻存血液应在室温或37℃缓慢解冻，不可高温加热，以免血凝成块；将冻存的血液置于37℃摇床150-200 rpm融化，效果最佳；也可提前一天放在4℃解冻；
- ◆ 磁珠用前一定要充分混匀；
- ◆ 56℃加热源
- ◆ 使用前需在Buffer BGW I中加入相应体积的无水乙醇。

操作步骤

1. 裂解：

- (1) 当全血样品量低于200 μl时，在全血中加入200 μl Buffer BGL、20 μl Proteinase K，56℃ 10min；
- (2) 当全血样品量高于200 μl时，12000 rpm离心1分钟，弃上清，加入200 μl PBS缓冲液，再加入200 μl Buffer BGL、20 μl Proteinase K，56℃ 10min；

2. 结合：在上述裂解液中加入400 μl 异丙醇和磁珠悬浮液(MB) 30 μl（使用前充分重悬），吹打分散磁珠；将离心管放置于磁力架上，待磁珠完全吸附后吸弃液体。

3. 漂洗：

- (1) 将离心管从磁力架上取下，向离心管中加入500 μl Buffer BGW 0，涡旋振荡5s，充分重悬磁珠，将离心管放置于磁力架上，待磁珠完全吸附后吸弃液体，重复该步骤一次。
- (2) 将离心管从磁力架上取下，向离心管中加入500 μl Buffer BGW I，涡旋振荡5s，充分重悬磁珠，将离心管放置于磁力架上，待磁珠完全吸附后吸弃液体。
- (3) 将离心管从磁力架上取下，向离心管中再次加入500 μl Buffer BGW I，涡旋振荡5s，充分重悬磁珠，利用磁力架磁性将磁珠聚集在管底（为了便于洗脱），待磁珠完全吸附后吸弃液体（液体一定要弃尽，不然残留会影响下游实验），晾干2 min。

4. 洗脱：将离心管从磁力架上取下加入50-100 μl Buffer EB，剧烈涡旋振荡结合移液器吹打，充分重悬磁珠（一定要完全吹散磁珠，若未充分重悬会影响DNA得率），56℃ 放置5 min（每隔2min振荡混匀重悬磁珠），置于磁力架上，将上清DNA转移至一新的离心管中，放入-20℃ 保存备用，保质期为2年。



常见问题

Q1:使用 Genepharma 磁珠法基因组 DNA 提取试剂盒的预期产量是多少?

A1: 处理100 μ l 新鲜血液, 预期可以获得 2~4 μ g 的 DNA;

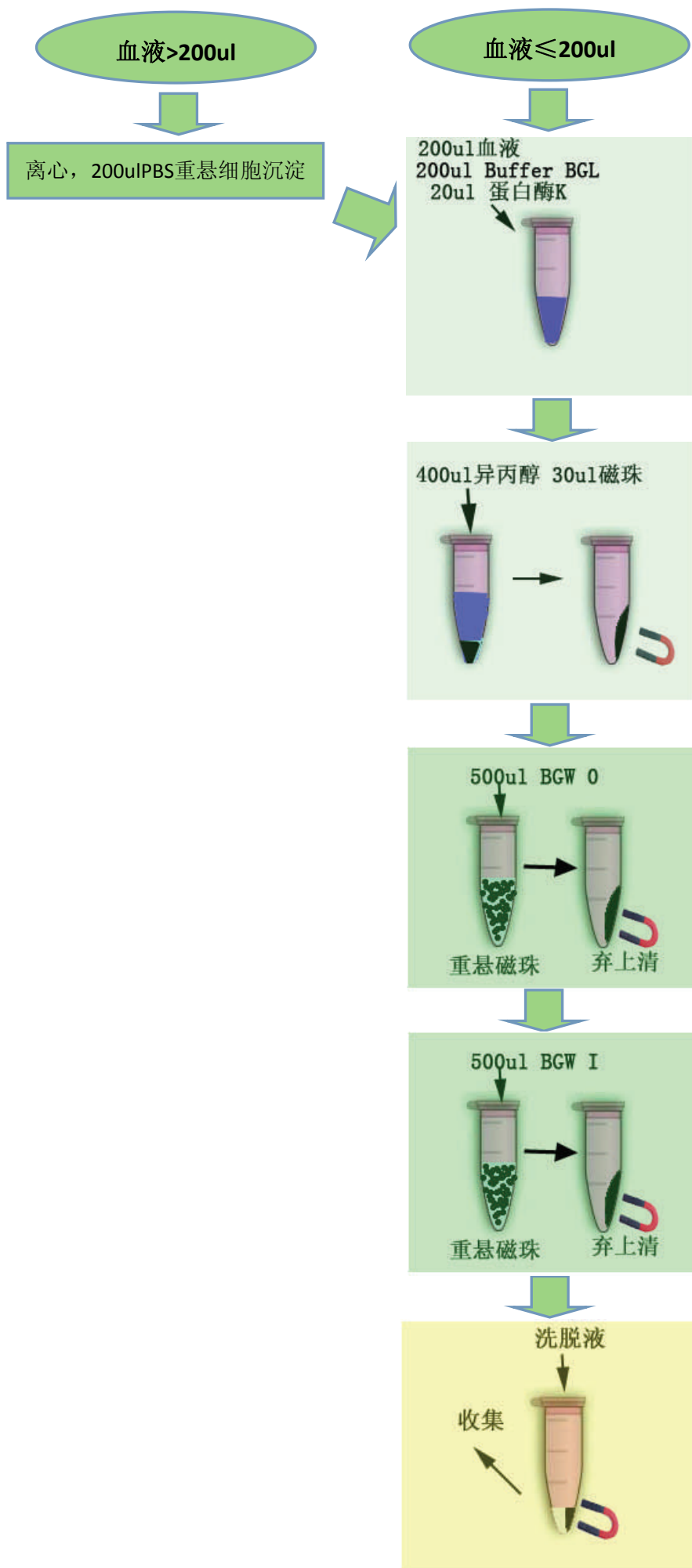
Q2: Genepharma 磁珠粒子的结合能力是多少?

A2: 在有结合液而无任何离液盐或是去污剂的情况下, 1 mg 的磁珠粒子可以结合800 μ g DNA。

Q3:提取的DNA得率低, 可能的原因和对策是什么?

可能的原因	建议
取样前没有充分混匀样品	充分混匀, 使细胞均匀的悬浮在样品中
结合不充分	结合过程要是磁珠一直处于悬浮状态, 结合时间在5分钟以上
裂解不充分	样品粘稠度高或细胞数目多容易造成裂解不充分, 减少样品用量
细胞含量太低	低速离心, 取细胞层50 μ l, 其他试剂按说明书操作

操作简图



裂解: 200 μ l 血液, 加入相应体积的蛋白酶K 和 Buffer BGL, 56°C 10 min (期间颠倒混匀数次)

注: 此处以 200 μ l 样本体积为例, 如其他体积需相应调整试剂用量

结合: 加入相应体积的异丙醇和磁珠, 室温放置 5min (期间颠倒混匀数次), 于磁力架上吸弃上清。

洗涤 I: 加入 500 μ l buffer BGW 0, 涡旋振荡 5S, 再次置于磁力架上, 吸弃上清, 重复该步骤一次。

洗涤 II: 加入 500 μ l Buffer BGW I, 涡旋振荡 5S, 再次置于磁力架上, 充分吸弃上清, 室温晾干磁珠 2min。

洗脱: 加入 50-100 μ l Buffer EB, 涡旋振荡结合移液器吹打, 尽量吹散磁珠, 56°C 放置 5min, 吸上清到干净离心管中保存。