

# 全血基因组 DNA 提取试剂盒（磁珠法）

## 使用说明书

### 【目录号】

HRK-CC107-50

HRK-CC107-100

### 【组分说明】

试剂成分	50 次	100 次
MagBeads	750 $\mu$ L $\times$ 1	1.5mL $\times$ 2
Buffer LB	12.5mL $\times$ 1	25mL $\times$ 1
Buffer WB1	30mL $\times$ 1	60mL $\times$ 1
Buffer WB2	30mL $\times$ 1	60mL $\times$ 1
Buffer TB	4mL $\times$ 1	8mL $\times$ 1
Proteinase K	15mg $\times$ 1	30mg $\times$ 1
Proteinase Buffer	1.2mL $\times$ 1	2.4mL $\times$ 1

### 【产品简介】

本试剂盒利用经过特殊表面处理的纳米级超顺磁性微球对核酸的选择性吸附实现高纯 DNA 的纯化，可有效去除血红蛋白等污染物对 PCR 反应的抑制作用。

### 【储存条件及有效期】

- 20°C  $\pm$  5°C 保存。
- 试剂盒在正确储存条件下有效期为 12 个月。

### 【适用范围】

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

### 【自备仪器、试剂】

1. 磁力架；
2. 金属浴或恒温震荡混匀仪；
3. 反转混匀仪；
4. 分析级酒精；
5. 分析级异丙醇；

### 【注意事项】请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

#### (1) 样本要求

- 1、血液采入 EDTA 真空采血管后应立即充分颠倒混匀，避免血凝，否则会影响核酸提取效率。若采完血后若不能及时提取基因组 DNA，将样品置于 4°C 条件下可保存一周，-20°C 条件下可长期保存。
- 2、如后续反应涉及 PCR 基因扩增，应避免使用肝素抗凝血。
- 3、若样品总量不足 250  $\mu$ L 时，用生理盐水补足至 250  $\mu$ L，然后按正常操作即可。
- 4、若遇到冷冻血样本，应提前将冷冻血置于 4°C 条件下自然解冻，待完全解冻后，低速涡旋或者颠倒几次使之充分混匀后，才可以取样，否则将会影响得率！

#### (2) 其他要求

- 1、本试剂盒仅限有专业经验或经专业培训的人员使用。
- 2、不可将本产品中的组分和其他公司的产品混合使用。
- 3、为了获得稳定的实验结果，建议将开启后的磁珠悬液（MagBeads）和洗脱液（TB）置于 15-25°C 保存。
- 4、磁珠悬液严禁冰冻、离心。冰冻和离心可能会对磁珠造成不可逆的损害。
- 5、第一次使用前应按照“试剂准备”要求对各组份进行处理，并做好标记。
- 6、磁珠悬液在使用前一定要涡旋震荡，使之充分混匀。
- 7、避免试剂接触皮肤、眼睛和粘膜，如接触到敏感区域，立即用大量清水冲洗，必要时请寻求医疗帮助。
- 8、请在试剂盒有效期内使用。
- 9、实验过程中所涉及到的废液废物请先用 84 消毒液处理，再经过高压灭菌处理后，联系专业的医疗废物垃圾处理公司上门处理。

### 【检验方法】

#### 1、试剂准备（以规格 50 次/盒为例）

- 1.1 Buffer WB1 配制：结合标签提示，向 Buffer WB1 中加入 40 mL 的无核酸酶无水乙醇（100 人份/盒的需加入 80 mL 无核酸酶无水乙醇），摇匀后备用，并在试剂瓶标签的方框内做标记。
- 1.2 Buffer WB2 配制：结合标签提示，向 Buffer WB2 中加入 45 mL 的无核酸酶无水乙醇（100 人份/盒的需加入 90 mL 无核酸酶无水乙醇），摇匀后备用，并在试剂瓶标签的方框内做标记。

1.3 Proteinase K 溶液配制：向 Proteinase K 中加入 750  $\mu$ L 的 Proteinase Buffer (20mg/ml) (100 人份/盒的需加入 1.5mL Proteinase Buffer)，震荡溶解后存储在 -20 $^{\circ}$ C。

## 2、实验步骤（手动提取法）

2.1 取 15  $\mu$ L Proteinase K 溶液到一新的 1.5 mL EP 管中，依次加入 250  $\mu$ L 全血、250  $\mu$ L Buffer LB、涡旋混匀，将 EP 管置于恒温震荡混匀仪，设置温度 56 $^{\circ}$ C，1300 rpm，震荡混匀 15 min，后取下 EP 管置于样本板中。

**注：如具备恒温震荡混匀仪，可设置温度 56 $^{\circ}$ C，1500 rpm 震荡混匀 15 min。**

2.2 向上述样本板中液体加入 15  $\mu$ L 磁珠（注意：使用前需充分混匀）、385  $\mu$ L 异丙醇，在翻转混匀仪上翻转 5 min（如没有反转混匀仪，可手动颠倒混匀 2min）。

**注：若样品较多，异丙醇与磁珠可按比例先混匀之后再分装至 EP 管中。**

2.3 将 EP 管置于磁力架上静置 1 min 进行磁分离(此过程中若管盖上有残留的磁珠，可将 EP 管连同磁力架一起翻转几次，使管盖和管壁上的磁珠被洗下来)，待磁珠完全被吸附后，吸弃上清液，避免吸弃磁珠。

2.4 向 EP 管中加入 700  $\mu$ L Buffer WB1 溶液（注：使用前加入所需无水乙醇），取下离心管在涡旋混匀仪上涡旋震荡 20s；之后放入在磁力架 30s，待磁珠完全被吸附后，吸弃上清液，避免吸弃磁珠。

2.5 重复步骤 4。

2.6 向 EP 管中加入 700  $\mu$ L Buffer WB2 溶液（注：使用前加入所需无水乙醇），取下离心管在涡旋混匀仪上涡旋震荡 15s；之后放入在磁力架 30s，待磁珠完全被吸附后，吸弃上清液，避免吸弃磁珠。

2.7 重复步骤 6。

2.8 打开离心管盖，室温放置 3-8 min。

**注：乙醇残留会影响后续实验，所以晾干时要确保乙醇挥发干净，但也不可干燥过头，否则 DNA 很难溶解。**

2.9 向 EP 管加入 50-100  $\mu$ L Buffer TB 洗脱液，涡旋震荡 15sec 使磁珠重新悬浮；在恒温加热器上 65 $^{\circ}$ C，1300rpm，10min，后取下离心管放置磁力架上 30s，后转出 DNA 产物，-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

**注：根据实验需求以及样品的具体情况加入适量的 Buffer TB，但体积不应少于 50  $\mu$ L，体积过小，会影响回收效率。**

## 3、实验步骤（匹配 Thermo KingFisher Flex 核酸提取仪）

3.1 按照下表向 DW 96 深孔板中加入试剂：

深孔板名称	深孔板类型	试剂及用量
Sample Plate	DW 96 深孔板	蛋白酶 K: 15 $\mu$ L 血液: 250 $\mu$ L Buffer ML: 250 $\mu$ L
Wash Plate I	DW 96 深孔板	Buffer WB1: 700 $\mu$ L 96 DW 磁套
Wash Plate II	DW 96 深孔板	Buffer WB1: 700 $\mu$ L
Wash Plate III	DW 96 深孔板	Buffer WB2: 700 $\mu$ L
Wash Plate IV	DW 96 深孔板	Buffer WB2: 700 $\mu$ L
Elution Plate	DW 96 深孔板	Buffer EB: 100 $\mu$ L

3.2 打开 KingFisher Flex，运行 CW2361\_Flex\_300 程序。按照仪器提示，将深孔板放入相应位置。

3.3 约 20 分钟后仪器暂停，向样品板中加入 400 $\mu$ L 充分混匀的异丙醇（385 $\mu$ L）与磁珠（15 $\mu$ L）的混合物。之后将样品板立即放回仪器。

3.4 约 30 分钟后程序运行结束，取出深孔板，后转出 DNA 产物，-20 $^{\circ}$ C 保存备用。