

磁珠法血斑&血卡基因组DNA提取试剂盒（常规版） MagBeads Blood Spots DNA Extraction Kit (Regular Version)

【目录号】BSDE-5005、BSDE-5010、BSDE-5030、BSDE-5100；

【运输条件】蛋白酶K 0~8℃运输，其它组分常温运输；

【保存条件】蛋白酶K -20℃保存；其它组分室温保存；

【保质期】1年（建议保存条件下）；

【试剂盒组成】

Kit Component 试剂盒组成	BSDE-5005 (50T)	BSDE-5010 (100T)	BSDE-5030 (300T)	BSDE-5100 (1000T)
① BSDE-Buffer 提取液	25mL	50mL	150mL	500mL
② Proteinase K 蛋白酶 K	1.5mL	3mL	9mL	30mL
③ Magnetic Beads 磁珠悬浮液	3.5mL	7mL	21mL	70mL
④ Wash Buffer 1 清洗液 1	30mL	60mL	180mL	600mL
⑤ Wash Buffer 2 清洗液 2-浓缩液	15mL (加入 60mL 无水乙醇)	25mL (加入 100mL 无水乙醇)	75mL (加入 300mL 无水乙醇)	125mL*2 (分别加入 500mL 无水乙醇)
⑥ Elute Buffer 洗脱液	5mL	10mL	30mL	100mL

【注意事项】

- 1) 磁珠悬浮液严禁反复冻融和离心，以免磁珠受到损害，使用前务必充分混匀；
- 2) 蛋白酶K长期不使用，请置于-20℃保存，融化后4℃保存，并尽快使用；
- 3) 清洗液2-浓缩液，实验前需按照试剂瓶标签提示加入无水乙醇，稀释备用；
- 4) 本操作指南经反复验证，使用前请仔细阅读，并按照操作指南的建议操作。

【产品简介】

本试剂盒适用于从血斑&血卡、精斑等微量固态样本中提取基因组DNA或病毒DNA。试剂盒采用表面修饰有特殊化学基团的纳米磁珠，具有独特的核酸分离作用，配合特殊缓冲液系统，在一定条件下对核酸具有极强的特异性亲和力，而当条件改变时磁珠会可逆的释放核酸，从而达到快速分离纯化核酸的目的，并最大限度的去除蛋白质及其它杂质，从而获得高质量的核酸产物，整个操作过程简单、快速且高效。

采用本试剂盒纯化所得基因组DNA产物完整性好、 $OD_{A260/280}$ 在1.7~2.0之间，可直接用于酶切、PCR、qPCR、文库构建、测序、杂交等下游分子生物学实验。本试剂盒可在EP管中手动法进行操作，亦可配合核酸提取仪实现高通量操作。

【试剂盒说明】

样本类型	标准样本量	核酸得量
血斑&血卡、精斑等	3x3mm斑片	0.5~5.0 μ g

【自备仪器、耗材和试剂】

手动版

多功能动态金属浴（英芮诚ETP-MH96型，若无，可用静态金属浴或水浴锅代替）、真空干燥箱或电风扇、涡旋混合仪、2.0mLEP管、英芮诚16孔磁力架（p/n: CQT-0001）或者多功能磁力架（p/n: CQT-0011）、微量移液枪、无水乙醇、异丙醇。

仪器自动版

英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪（或其它品牌磁棒法核酸提取仪）、多功能动态金属浴（英芮诚ETP-MH96型，若无，可用静态金属浴或水浴锅代替）、涡旋混合仪、96孔方孔圆底板及配套磁棒套（英芮诚96孔板套装，p/n: XHP-0009）、微量移液枪、无水乙醇、异丙醇。

【手动版操作步骤】

1. 样品溶解和消化

- 1) 将样本剪成3x3mm大小斑片，转移至2.0mLEP管中。加入500 μ L提取液和30 μ L蛋白酶K溶液，涡旋混匀；
- 2) 将EP管置于ETP-MH96型多功能动态金属浴上，800rpm、60 $^{\circ}$ C加热裂解30min（若无多功能动态金属浴，亦可在水浴锅或者静态金属浴上加热裂解40min，需期间每隔10min摇晃混匀一次）；
- 3) 裂解完毕，将EP管于12,000rpm离心1min后，转移全部上清至新的2.0mL EP管中。

2. 核酸结合

向EP管中加入400 μ L异丙醇和70 μ L磁珠悬浮液，涡旋振荡混匀10min。

注：1) 每次吸取磁珠悬浮液前尽量摇晃均匀；2) 混匀不充分可能导致得量降低。

3. 磁性分离

将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，如果EP管内盖有液体，可保持EP管在磁力架上，整体上下颠倒2~3次，使磁珠完全被磁力架吸附。

保持EP管固定于磁力架上，用移液枪完全弃去上清液，期间避免移液枪的Tip吸头接触到磁珠。

4. 清洗

向EP管中加入600 μ L清洗液1，将EP管从磁力架上取下，用移液枪吹散磁珠后涡旋震荡2min，磁性分离（参照步骤3操作）。

5. 清洗

使用600 μ L清洗液2（已加入无水乙醇），参照步骤4操作2次，弃尽上清。

6. 除醇

将弃尽上清液后的EP管置于磁力架上，连同磁力架一起放入45 $^{\circ}$ C真空干燥箱中，干燥约10min至无明显乙醇气味。

注：若无真空干燥箱，亦可在保持通风橱通风或电风扇的状态下静置约10min，具体时间根据气温变化可能需要适当调整，以干燥至磁珠颜色变浅，无明显乙醇气味即可，过度干燥会严重影响DNA产物的洗脱效率。清洗液2清洗结束后，用无水乙醇漂洗一遍，可以提高除醇的效率。

7. 洗脱

取出EP管，加入50~100 μ L洗脱液，移液枪吹打使磁珠与洗脱液充分混匀，将EP管置于ETP-MH96型多功能动态金属浴上，800rpm、60 $^{\circ}$ C加热洗脱8min（若无多功能动态金属浴，亦可在水浴锅或者静态金属浴上60 $^{\circ}$ C加热洗脱10min，需期间每隔3min涡旋振荡30s），确保磁珠与核酸洗脱完全。

8. 核酸转移

洗脱完毕后，将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，用移液枪将洗脱液转移至另一干净EP管中，做好标记，-20 $^{\circ}$ C保存备用，此时可以弃去磁珠。

【仪器自动版操作步骤】

本操作以英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪为例，可同步完成32个样本提取工作。

1. 上样准备

参照下表用量向96孔板中分别加入相应试剂：

样本孔位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液 70 μ L 80%乙醇 200 μ L	异丙醇 400 μ L	清洗液 1 600 μ L	清洗液 2 600 μ L	清洗液 2 600 μ L	洗脱液 50~100 μ L

注：1) 每次吸取磁珠悬浮液前尽量摇晃均匀；2) 为提高效率建议使用排枪；3) 试剂加板完毕请尽快使用，防止醇挥发导致结果波动。

2. 样品溶解和消化

- 1) 将样本剪成3×3mm大小斑片，转移至2.0mLEP管中。加入500 μ L提取液和30 μ L蛋白酶K溶液，涡旋混匀；
- 2) 将EP管置于ETP-MH96型多功能动态金属浴上，800 rpm、60℃加热裂解30min，若无多功能动态金属浴，亦可在水浴锅或者静态金属浴上加热裂解40min，需期间每隔10min简单涡旋混匀一次；
- 3) 裂解完毕，将EP管于12,000rpm离心1min后，将上清液转入96孔板第2/8列孔位中。

3. 上机提取

将准备好的96孔板置于ETP-300型核酸提取仪中、插入磁棒套、打开仪器操作软件，调用“血斑&血卡DNA提取实验方法”程序，单击“运行”执行程序。

“血斑&血卡DNA提取”程序各参数设置如下，如仪器上程序参数与说明书不一致，请以说明书为准：

步骤编号	孔位	运行类型	振荡时间 (s)	分离时间 (s)	挥发时间 (s)	振荡幅度	振荡强度	一组温度 (°C)	二组温度 (°C)	三组温度 (°C)	四组温度 (°C)
1	1	磁珠转移	2	1	0	5	弱	0	0	0	0
2	2	DNA 结合	240	0	0	5	强	0	0	0	0
3	2	DNA 结合	360	1	0	5	强	0	0	0	0
4	3	清洗 1	180	1	0	5	中	0	0	0	0
5	4	清洗 2	120	1	0	5	中	0	0	0	0
6	5	清洗 2	120	1	300	5	中	0	0	0	0
7	6	洗脱	360	20	0	2	中	60	60	60	60
8	3	弃磁珠	5	0	0	5	强	0	0	0	0

4. 核酸转移

程序运行完毕后，取下96孔板，将洗脱液转移至干净的EP管中，提取过程完毕。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南所有权利。版本：V201812.141

英芮诚生化科技（上海）有限公司

地址：上海市杨浦区国权北路1688号湾谷科技园A8座303室

电话：021-55809378

网址：www.bio-enriching.com

电子邮件：marketing@bio-enriching.com