

磁珠法血液基因组DNA小量提取试剂盒（常规版） MagBeads Blood DNA Extraction Mini Kit (Regular Version)

【目录号】BDE-5005、BDE-5010、BDE-5030、BDE-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）；

Kit Component 试剂盒组成	BDE-5005 (50T)	BDE-5010 (100T)	BDE-5030 (300T)	BDE-5100 (1000T)
① Magnetic Beads 磁珠悬浮液	1mL	2mL	6mL	20mL
② BDE Buffer ML 裂解液	10mL	20mL	60mL	200mL
③ Wash Buffer 1 清洗液 1	35mL	70mL	210mL	700mL
④ Wash Buffer 2 清洗液 2-浓缩液	16mL (加入 64mL 无水乙醇)	30mL (加入 120mL 无水乙醇)	90mL (加入 360mL 无水乙醇)	150mL*2 (分别加入 600mL 无水乙醇)
⑤ Proteinase K 蛋白酶 K	1mL	2mL	6mL	20mL
⑥ Elution 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. **清洗液2-浓缩液**为浓缩液，用户需按照试剂瓶上描述提前加入**无水乙醇**，稀释备用；
3. **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；
4. 血液样本应避免反复冻融，否则会因核酸降解导致得量降低；
5. 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】

本试剂盒适用于从少量新鲜或冻存过的抗凝血液样本中提取基因组DNA。血液样本裂解液后，在结合Buffer体系中，基因组DNA高效结合于磁珠表面，再经过清洗、洗脱等步骤，可得到高纯度的基因组DNA产物， $OD_{A260/280}$ 在1.7~1.9之间、 $OD_{A260/230}$ 大于1.8、完整性好，可直接用作PCR模板、杂交等下游分子生物学实验。整个操作过程简单、快速且高效。

本试剂盒可在EP管中手动法操作，亦可配合英芮诚自动化核酸提取仪或其它品牌磁棒法核酸提取仪使用，实现高通量操作。

【试剂盒说明】

样本类型	样本量	DNA得量范围
血液	200 μ L	5~15 μ g

【自备仪器、耗材和试剂】

仪器自动版：涡旋混合仪、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）、96孔方孔圆底板、无水乙醇、英芮诚ETP-300核酸提取仪。

手动版：涡旋混合仪、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）、2.0mL EP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）、无水乙醇、异丙醇、真空干燥箱。

【仪器自动版操作步骤】

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

1. 上样准备

参照下表用量向96孔板中分别加入相应试剂：

样品位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液 20 μ L	异丙醇 300 μ L	清洗液 1 700 μ L	清洗液 2 700 μ L (已加入无水乙醇)	清洗液 2 700 μ L (已加入无水乙醇)	洗脱液 100 μ L

注：1) 每次吸取磁珠悬浮液前尽量摇晃均匀；2) 试剂加板完毕请尽快使用，以免醇发生挥发。

2. 血样裂解

1) 向 2.0mL EP 管中加入 200 μ L 血液样本、20 μ L 蛋白酶 K 和 200 μ L 裂解液；

- 2) 涡旋混匀, 置于 ETP-MH96 型多功能动态金属浴上, 800rpm、58℃加热裂解 15min (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 15min, 需期间每隔 5min 颠倒混匀 3 次);

注: 对于 24 小时以内取样的新鲜血液, 建议裂解时间延长 5~15min; 或者-20℃冷冻过夜处理, 提取效果更佳。

- 3) 裂解完毕, 室温放置 5min, 低速瞬离使管内液体集中至管底, 待用。

3. 上机提取

- 1) 将步骤2裂解完毕的样本全部转移至96孔板的第2/8列孔位中;

- 2) 将96孔板置于ETP-300型核酸提取仪中, 并插入磁棒套;

- 3) 打开仪器操作软件, 调用“全血DNA提取: 常规版”程序, 并运行。

“全血 DNA 提取: 常规版”程序参数设置如下, 如仪器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	2	弱	0	0	0	0
2	2	DNA 结合	600	1	0	4	中	0	0	0	0
3	3	清洗 1	240	1	0	5	强	0	0	0	0
4	4	清洗 2	180	1	0	5	强	0	0	0	0
5	5	清洗 2	180	2	300	5	强	0	0	0	0
6	6	洗脱	300	20	0	2	中	60	60	60	60
7	3	弃磁珠	5	0	0	5	强	0	0	0	0

4. 核酸转移

程序运行完毕, 取出试剂板, 将洗脱液转移至干净EP管中, 提取过程完毕。

【手动版操作步骤】

1. 血样裂解

参考【仪器自动版操作步骤】中步骤 2 操作。

2. 核酸与磁珠结合

向裂解完毕EP管中加入20μL磁珠悬浮液和300μL异丙醇。涡旋振荡5min后静置2min (重复两次)。

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约20s至磁珠吸附完全, 如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，用移液枪吸弃上清液，期间避免移液枪的Tip吸头接触到磁珠。

4. 清洗1

向EP管中加入700 μ L清洗液1，将EP管从磁力架上取下，用移液枪吹散磁珠，高速涡旋震荡2min，参照步骤3进行磁性分离，吸弃上清液。

注：若磁珠出现团聚现象，是因为DNA含量多引起，不影响洗脱效率及核酸得量。

5. 清洗2

使用700 μ L清洗液2，参照步骤4操作2次。

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，亦可将EP管置于通风橱通风或电风扇吹大约10min，至磁珠干燥完全，具体时间根据气温变化可能需要适当调整，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，用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）。

8. 核酸转移

将EP管置于磁力架上静置约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，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：V201811.291

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