

磁珠法毛发DNA提取试剂盒

MagBeads Hair DNA Extraction Kit

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

【运输条件】常温运输；

【保存条件】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	HDE-5005 (50T)	HDE-5010 (100T)	HDE-5030 (300T)	HDE-5100 (1000T)
① HDE Magnetic Beads 磁珠悬浮液	4mL	8mL	24mL	80mL
② HDE Buffer ML 裂解液	20mL	40mL	120mL	400mL
③ HDE Wash Buffer 清洗液	25mL	50mL	150mL	500mL
④ 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. 使用前检查裂解液（组分②）是否出现浑浊，如有混浊置于37℃水浴中温浴至恢复澄清；
3. 对毛发样本进行DNA提取之前，需先对样本进行清洁以防止外源性DNA污染；
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】

本试剂盒可从毛发样本的毛干部分中分离纯化DNA。毛干中DNA含量极低，不易提取，而且存在大量角蛋白和色素等杂质，生长过程中毛发的角质化会导致皮质细胞溶解，从而导致DNA损失。毛干中可提取到DNA的主要区域至今尚无确切说法，有研究认为DNA存在于外部角质层中，毛发生长过程中特殊的角质蛋白包埋并保护了含量极低的DNA。本试剂盒采用特殊的裂解条件和纳米磁珠，在裂解液（HDE Buffer ML）环境中，毛干样本中DNA得到释放并结合于磁珠表面，经过清洗、洗脱等步骤，可得到高质量的DNA产物，所得产物可应用于STR基因分型、PCR等分子生物学实验。

本试剂盒可配套自动化核酸提取仪或工作站使用，实现高通量提取。

【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）、英芮诚 ETP-300核酸提取仪，96孔方孔圆底板、80%乙醇，异丙醇。

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离心管、英芮诚16孔磁力架（p/n: CQT-0001）或者多功能磁力架（p/n: CQT-0011）、80%乙醇、异丙醇。

【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个样本的提取。

1. 样本前处理

取1~3根毛发（总长5~15cm），用70%乙醇溶液冲洗一次，再用灭菌蒸馏水冲洗2次；晾干后剪成2mm左右小段，全部转移至2mL离心管中。

2. 样本裂解

向上述离心管中加入400 μ L裂解液，涡旋混匀，置于ETP-MH96型多功能动态金属浴上，800rpm、58 $^{\circ}$ C加热裂解2h（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2h，需期间每隔20min颠倒混匀3次）。裂解完毕，低速瞬离将离心管内液体集中至管底，待用。

3. 上样准备

裂解过程中，参照下表用量向96孔板各孔位中分别加入相应试剂：

样本位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液 75 μ L	异丙醇 400 μ L	清洗液 500 μ L	80%乙醇 700 μ L	80%乙醇 700 μ L	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) 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。

4. 上机提取

将步骤2裂解完毕的上清液全部转移至96孔板的第2/8列孔位；将准备好的96孔板放入ETP-300型核酸提取仪中，插入磁棒套；打开仪器操作软件，调用“毛发DNA提取”程序，单击“运行”执行程序。

“毛发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 ($^{\circ}$ C)	二组温度 ($^{\circ}$ C)	三组温度 ($^{\circ}$ C)	四组温度 ($^{\circ}$ C)
1	1	磁珠转移	1	5	0	2	弱	0	0	0	0
2	2	DNA 结合	480	5	0	4	中	0	0	0	0
3	3	清洗	120	5	0	5	强	0	0	0	0
4	4	清洗	60	5	0	5	强	0	0	0	0
5	5	清洗	60	5	300	5	强	0	0	0	0
6	6	洗脱	360	15	0	2	强	55	55	55	55
7	3	材料回收	15	0	0	5	强	0	0	0	0

5. 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. 样本前处理

取1~3根毛发（总长5~15cm），用70%乙醇溶液冲洗一次，再用灭菌蒸馏水冲洗2次；晾干后剪成2mm左右小段，全部转移至2mL离心管中。

2. 样本裂解

参考【仪器自动版】步骤2操作。

3. 核酸结合

向上述离心管中加入75 μ L磁珠悬浮液和400 μ L异丙醇，颠倒混匀，涡旋振荡5min后静置2min（重复两次）。

4. 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。

5. 清洗1

向离心管中加入500 μ L清洗液，将离心管从磁力架上取下，用移液枪吹散磁珠，涡旋震荡2min，磁性分离（参照步骤4操作）。

6. 清洗2

使用700 μ L 80%乙醇，参照步骤5操作2次。

7. 除醇

将除尽上清液后的离心管置于磁力架上，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。

8. 洗脱

取出离心管，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）。

9. 核酸转移

洗脱完毕，将离心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离心管中，做好标记，-20 $^{\circ}$ C保存备用，此时可以弃去磁珠。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南的所有权利。版本：V201901.101

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