

核酸提取或纯化试剂使用说明书

【产品名称】 全血基因组 DNA 纯化试剂盒。

英文名称: Blood Genomic DNA Kit。

【包装规格】 96 T/盒、100 T/盒。

【适用范围】 各类哺乳动物抗凝全血、分离的白细胞、细胞悬液等。

【原理】 样本与细胞裂解缓冲液混合,使得细胞破碎并将核酸释放。在裂解缓冲液中纳米磁珠颗粒通过表面修饰的功能基团能与游离的 DNA 特异性的结合,形成磁珠-DNA 复合物。在外磁场力的作用下,将磁珠-DNA 复合物转移到洗涤缓冲液中,洗去多余的杂质。再在外磁场力的作用下转移到洗脱缓冲液中,将 DNA 洗脱回收。

【组成成份】

| 货号 | SUP051601 | SUP051602 | 主要成分 |
|-------------|-----------|--------------------|----------------|
| 试剂盒规格 | 100T | 96T | |
| 蛋白酶 K | 2mL | 2mL | 蛋白酶 K 溶液 |
| Buffer ABL | 40mL | 96 孔预分装 试剂板 6 块 | 强变性剂与 Tris 缓冲液 |
| Buffer WA | 33mL×2 | | 高盐溶液 |
| Buffer WB×2 | 12mL×2 | | 低盐溶液 |
| Buffer DE | 10mL | | 低盐溶液 |
| 磁珠 | 2mL | | 羟基磁珠溶液 |
| 说明书 | 1 | 1 | |

注:若购买的是 SUP051601 请在使用前在 Buffer WA 中加入 20 mL 的无水乙醇。在 Buffer WB 中加入 48mL 的无水乙醇。无水乙醇、异丙醇(分析纯)需要但需用户自备。

【储存及有效期】

- 1、试剂盒可在常温保存,蛋白酶 K 收到后请放置-20°C。
- 2、试剂盒有效期为 12 个月,请在有效期内使用。

【适用设备与仪器】

磁性分离架或者广州赛百纯生物科技有限公司全自动核酸提取仪 MyPure-32。

【样本要求】

- 1、如果样本体积不足 200 μ L, 请用 PBS 或者生理盐水补足。
- 2、提取其他哺乳动物血液样本与人类全血一致。

【操作方法】

方案一、若购买的是 SUP051601 请按照如下手工操作方法进行实验（用户自备磁性分离架）。

1. 加 20 μ L 蛋白酶 K 到 1.5mL 无菌离心管底。
2. 加 200 μ L 抗凝全血样本（注意：样本需混匀）。
3. 加入 300 μ L Buffer ABL，剧烈振荡混匀 25s。
4. 56 $^{\circ}$ C 孵育 10min（注意：期间每个 2-3min，颠倒混匀几次，若冬季或实验环境温度比较低，Buffer ABL 会变浑浊，可以将离心管放至 56 $^{\circ}$ C）。
5. 加入 20 μ L 混合均匀的磁珠和 300 μ L 异丙醇，上下颠倒混匀离心管，室温静置 5min（注意：期间每隔 1min，颠倒混匀几次）。
6. 将离心管放入磁性分离架，使其吸附磁珠，磁吸时间 1min，吸弃液体，从磁性分离架上移开离心管。
7. 加入 500 μ L Buffer WA 到离心管中，振荡混匀，尽可能将磁珠振到完全分散，使用磁性分离架吸附磁珠，吸弃液体，从磁性分离架上移走离心管。
8. 重复步骤 7 一次。
9. 加入 600 μ L Buffer WB 到离心管中，上下颠倒混匀，确保磁珠完全分散，使用磁性分离架吸附磁珠，吸弃液体。
10. 从磁性分离架上移走离心管，重复步骤 9 一次（注意：此步骤确保液体弃干净）。
11. 室温开盖干燥 5min。
12. 加 100 μ L Buffer DE，振荡混匀离心管，此时离心管壁可能会吸附磁珠，用移液器将其吹打下来，室温静置 10min（注意：期间每隔 2-3min 混匀一次，若冬季或实验环境温度比较低可以将离心管放至 60 $^{\circ}$ C）。
13. 使用磁性分离架吸附磁珠，小心吸取含有 DNA 的液体转移到干净无菌的离心管中备用。若不急需使用 DNA，请放入 -20 $^{\circ}$ C 冻存。

方案二、配套自动化仪器使用，以赛百纯生物公司生产的 MyPure-32 全自动核酸提取仪为例。

1、试剂准备

a. 若购买的是 SUP051601 请按照如下操作方式进行。

在 96 孔深孔板的第 1、7 列中各加入 300μL Buffer ABL，在第 2、8 列中各加入 500μL Buffer WA（请确认已加无水乙醇）和 20μL 磁珠（注意：磁珠在加入前已经混合均匀），在第 3、9 列中各加入 500μL Buffer WA；在第 4、5 和 10、11 列中各加入 600μL Buffer WB（请确认已加无水乙醇），在第 6、12 列中各加入 100μL Buffer DE。

b. 若购买的是 SUP051602 请按照如下操作方式进行。

将室温放置的 96 孔试剂板颠倒 3-5 次，有条件的用户可以在去除塑封膜前在 96 孔板离心机中短暂离心，若没有离心机也可以手甩，避免挂液。小心撕去塑封膜，确认板子的方向（磁珠在 2/8 列）。

2、在 96 孔板的第 1、7 列中各加入 200μL 的样本（样本需混匀）和 20μL 的蛋白酶 K。

3、将 96 孔板放入 MyPure-32 全自动核酸提取仪的指定位置中，装上磁力套。

4、请按以下程序进行实验。

运行 流程库 编辑 选项 关机 关于 20:31:49 07/26

编号: 200715_151905 名称: 全血基因组DNA

| 步骤 | 孔位 | 液量 (uL) | 浸泡 (秒) | 搅拌强度(级) | 搅拌时间 (秒) | 下降吸 (秒) | 液底吸 (秒) | 吸磁次数(次) | 等待 (秒) | 暂停 关/开 | 板1裂1 (°C) | 板1裂2 (°C) | 板1脱 (°C) | 板2裂1 (°C) | 板2裂2 (°C) | 板2脱 (°C) | 风扇 关/开 |
|------|-----|---------|--------|---------|----------|---------|---------|---------|--------|--------|-----------|-----------|----------|-----------|-----------|----------|--------|
| 1-99 | 1-6 | 20~1000 | 0~255 | 1~6 | 0~9999 | 5~600 | 0~255 | 0~255 | 0~9999 | 0/1 | 0~125 | 0~125 | 0~125 | 0~125 | 0~125 | 0~125 | 0/1 |
| 1 | 1 | 500 | 0 | 3 | 900 | 5 | 3 | 0 | 0 | 1 | 65 | 0 | 0 | 0 | 65 | 0 | 0 |
| 2 | 2 | 500 | 0 | 3 | 20 | 20 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 1 | 720 | 0 | 3 | 300 | 20 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 2 | 500 | 0 | 5 | 60 | 20 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 3 | 500 | 0 | 5 | 60 | 20 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 4 | 600 | 0 | 5 | 60 | 20 | 3 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 5 | 600 | 0 | 5 | 60 | 20 | 3 | 3 | 90 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 6 | 100 | 0 | 4 | 300 | 20 | 3 | 4 | 0 | 0 | 0 | 65 | 0 | 0 | 65 | 0 | 0 |
| 9 | 2 | 500 | 0 | 6 | 20 | 5 | 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1 |

增加 复制 粘贴 删除 检查 1 2 3 4 5 6 7 8 9 0 回格

5、程序运行 15min 后，提示暂停，需要在孔 1、7 列加入异丙醇 300 μL，加入后，将 96 孔试剂板放回提取仪，点击继续运行程序；

6、约 25min 后，仪器程序运行结束，将第 6、12 列的 Buffer DE 转移至干净的无菌离心管子中备用，如不急需使用 DNA，可以将其放入-20℃冻存。

【产品性能参考数值】

提取的 DNA OD260/OD280 比值：1.7-2.0，浓度： $\geq 5\mu\text{g}/200\mu\text{L}$ 新鲜全血，若为陈旧的血样则： $\geq 2\mu\text{g}/200\mu\text{L}$ 全血。

【产品的局限性】

样本：本试剂盒适用于抗凝的全血，若样本已经凝结成血块，则会对提取效果有影响。

样本量：提取的样本量不得超过 $200\mu\text{L}$ 。

结果解释：本试剂盒手工提取的效率可能会比仪器提取稍低，由于手工操作会有一些的误差造成的。

【注意事项】

- 1、 Buffer WA 和 Buffer WB 按要求加入无水乙醇（分析纯）。
- 2、 如果室温过低，Buffer ABL 可能会有少许晶体析出或变浑浊，只需将其盖子拧紧放入 55°C 的水浴中预热 5-10min，确认溶液澄清后再使用；若没有水浴，也可以将浑浊的裂解液颠倒混匀几次，直接使用，对提取效果无影响。
- 3、 上述的程序适用于 MyPure-32 全自动核酸提取仪，如果用户使用其他品牌的核酸提取仪，需根据实际使用的仪器性能进行调整程序。
- 4、 试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜，一旦直接接触，请立即用大量清水冲洗。

【基本信息】

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司

地址：广州市黄浦区瑞和路 79 号 205

服务热线：020-82517389

邮编：510600

网址：<http://www.surbiopure.com>