

血液基因组 DNA 提取试剂盒（磁珠法）使用说明书

【预期用途】

血液基因组 DNA 提取试剂盒（磁珠法）用于从少量人或动物血液中分离纯化出高质量、高浓度的基因组 DNA。

【检验原理】

裂解吸附液和蛋白酶 K 使血液基因组 DNA 与蛋白质分离，在裂解吸附液高盐低 pH 的环境下，磁珠表面的硅胶高效吸附分离的 DNA；洗涤磁珠，去除蛋白、盐等杂质；在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶释放吸附的 DNA，从而达到快速分离纯化基因组 DNA 的目的。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	组成成分	50T	100T	200T
MDT-BD02	裂解吸附液 D	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶
	蛋白酶 K	1mL×1 支	2mL×1 支	4mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	磁珠	500μL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	洗脱液 B	5mL×1 瓶	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

蛋白酶 K：常温（10-30℃）运输，-20℃保存；

磁珠：常温（10-30℃）运输，2-8℃保存；

其他试剂：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%会影响提取效果。
2. 提前配制 80%乙醇水溶液，乙醇水溶液中乙醇含量低于 80%会影响提取效果。
3. 磁珠使用前必须充分混匀，磁珠不均匀容易导致磁珠吸取量不准确，从而影响提取效率。
4. 洗脱液使用量太少会影响提取效果。
5. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
6. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
7. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

EDTA 抗凝的全血或血凝块。血液样本抽取后应尽快提取基因组 DNA；如 2 小时后提取，样本需要保存于 2-8℃，保存时间不超过 72 小时。长期使用的样本需-80℃或液氮保存，或者使用保存液按要求保存。溶血和脂血对提取无影响。

【适用范围】

≤200μL 哺乳动物全血；>200μL 哺乳动物全血需使用溶血剂；5-10μL 禽类、两栖类动物全血；≤1000μL 哺乳动物血凝块。

【样本用量及得率】

样本类型	样本用量 (μL)	DNA 得率 (μg)
哺乳动物抗凝全血	≤200	1-40
	>200	与样本用量有关
禽类、两栖类抗凝全血	5-10	3-90
血凝块	≤1000	1-50

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力 $\geq 12000 \times g$ ）、振荡仪、恒温振荡金属浴或金属浴、2mL 磁力架、1.5mL 离心管、生理盐水、无水乙醇和异丙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入相应量的无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。

【样本处理】

一、哺乳动物抗凝全血

1. 全血用量不超过 200μL：

在 1.5mL 离心管中加入 200μL 全血（白细胞层）。如血量不足，用生理盐水补充至 200μL，吹打混匀。

2. 全血用量大于 200μL：

2.1 在全血（白细胞层）样本中加入 2 倍体积的溶血剂（根据需要免费提供），颠倒混匀后静置 2 分钟至溶液清亮， $12,000 \times g$ 离心 1 分钟。

2.2 弃上清，保留细胞沉淀。

2.3 细胞沉淀用 200μL 生理盐水重新悬浮后，转移至 1.5mL 离心管中。

二、禽类、两栖类动物和鱼类抗凝全血

1. 在 1.5mL 离心管中加入 5-10μL 全血，用生理盐水补充至 200μL，吹打混匀。

2. 瞬时离心，消除泡沫。

三、血凝块

1. 取血凝块加入液化柱（自备）中， $12,000 \times g$ 离心 1 分钟，收集滤液。

▶如血凝块较大可分批多次过柱，合并滤液。

2. 滤液用量不超过 200μL：

在 1.5mL 离心管中加入 200μL 滤液。如滤液不足，用生理盐水补充至 200μL，充分混匀。

3. 滤液用量大于 200μL:

3.1 在滤液样本中加入 1mL 溶血剂（根据需要免费提供），颠倒混匀后静置 2 分钟，12,000×g 离心 1 分钟。

3.2 弃上清，保留细胞沉淀。

►沉淀物较多（裂解不彻底）时，可以在沉淀中再次加入 1mL 溶血剂后重复步骤 3.1-3.2

3.3 细胞沉淀用适量生理盐水重新悬浮后，取 200 微升转移至 1.5mL 离心管中。

【操作步骤】

1. 在上述含 200μL 样本的 1.5mL 离心管中加入 200μL 裂解吸附液 D 和 20μL 蛋白酶 K。闭盖，充分混匀。瞬时离心，60℃ 静置孵育 10 分钟。

►提取禽类和两栖类血液样本 DNA 时，60℃ 1,500rpm 振荡孵育 10 分钟可以获得更好的提取效果。

2. 开盖，加入 280μL 异丙醇和 10μL 混匀的磁珠，闭盖。室温 3,000rpm 振荡 30 秒。

►磁珠使用前必须充分混匀。

3. 取出离心管，瞬时离心。将离心管放于磁力架上，吸附磁珠 3 分钟。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►由于各个实验室磁力架磁力不尽相同，吸附时间可以根据具体实验情况调整。

4. 加入 600μL RAW1，闭盖。从磁力架上取下离心管，充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

5. 将离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈（吸附过程中颠倒磁力架数次，使离心管盖上残留的磁珠被充分回收）。开盖，吸弃液体，保留磁珠（需吸干管底和管盖中的残留液体）。

►吸附磁珠务必至液体清澈。

6. 加入 600μL 80%乙醇水溶液。从磁力架上取下离心管，充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

7. 将离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈（吸附过程中颠倒磁力架数次，使离心管盖上残留的磁珠被充分回收）。开盖，吸弃液体，保留磁珠（需吸干管底和管盖中的残留液体）。

►吸附磁珠务必至液体清澈。

8. 加入 600 μ L 80%乙醇水溶液。从磁力架上取下离心管，用移液器吹打混匀，使磁珠完全分散在乙醇水溶液中。转移 80% 乙醇水溶液中的磁珠至新的 1.5mL 离心管中。

►务必将 80%乙醇水溶液中的磁珠转移至新的 1.5mL 离心管中，否则易导致离子残留过多。

9. 将新的离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►磁吸附珠务必至液体清澈。

10. 将离心管放入离心机，闭盖瞬时离心 5 秒。

11. 将离心管放回 2mL 磁力架，开盖，吸弃残留液体。

12. 将离心管放入金属浴，开盖，50℃烘干 2 分钟。闭盖，取出离心管。

►样本较多时，取出离心管后必须闭盖，以防磁珠过度干燥，影响洗脱效果。

13. 开盖，在离心管中加入 200 μ L 洗脱液 B，充分吹打混匀磁珠。闭盖，室温 1,500rpm 振荡 3 分钟。

►洗脱液 B 的量可以根据需要调整，但洗脱液必须完全覆盖磁珠。

14. 将离心管放入磁力架上，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸取洗脱液转移至新的离心管中。洗脱液即可直接用于 PCR 反应，也可 -20℃ 保存备用。

►为了避免洗脱液中微量磁珠残留，洗脱液转移至新的离心管后，可以 12,000 $\times$ g 离心 1 分钟，以彻底去除磁珠。

►室温振荡洗脱后不能离心收集磁珠，离心会导致离心管中的残留物进入洗脱液，从而抑制后续实验。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 25 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：www.wuxi-medtech.com

联系电话：173 1562 0564（微信同号）；

138 6175 7779（微信同号）