



磁珠法全血基因组 DNA 提取试剂盒 (20T) 使用说明书

本产品采用独特的生物磁珠和缓冲液系统, 从全血样品中分离纯化高质量 DNA。特殊包被的生物磁珠对目标 DNA 具有很强的亲和力, 能够达到快速高效分离和纯化 DNA 的目的。使用全过程不涉及有毒试剂, 安全、便捷、高效。经本产品纯化的 DNA 可以应用到各类下游分子生物学实验。

适用范围

从人类和哺乳动物的血液中提取基因组 DNA。获得的 DNA 适用于各种常规操作, 包括 PCR、荧光定量 PCR 等各种下游实验。

试剂盒组成

Buffer A	6 ml×1 瓶	洗涤液 I	16 ml×1 瓶
Buffer B	0.2 ml×1 瓶	洗涤液 II	20 ml×1 瓶
磁珠	0.2 ml×1 瓶	洗脱液	1 ml×2 瓶

操作步骤

- 裂解:** 取 150 μ l 抗凝全血到 1.5ml EP 管中, 加入 300 μ l Buffer A、10 μ l Buffer B, 混合均匀 (可用漩涡振荡器, 1200~1800rpm); 然后把 EP 管置于恒温水箱中 70 $^{\circ}$ C 温育 30min。
- 结合:** 将 EP 管从温浴设备中取出, 加入振荡混匀的磁珠 10 μ l, 加入异丙醇 300 μ l (自备); 室温下颠倒混匀, 结合 5min; 将 EP 管置于磁力架上进行磁分离, 吸弃废液, 吸净管盖及管底残液。
- 洗涤:** 1) 加入 800 μ l 洗涤液 I, 点振 5~10 次 (若有团状或丝状物可增加点振次数和强度), 然后磁分离, 吸净管盖及管底的残液; 2) 加入 500 μ l 洗涤液 II, 点振 5~10 次, 然后磁分离, 吸净管盖及管底的残液; 3) 重复 2) 步骤, 室温下开盖干燥 5min。
- 洗脱:** 加入 50-100 μ l 洗脱液, 缓慢抽吸混匀, 70 $^{\circ}$ C 温浴 5min; 每隔 2-3min 轻摇 EP 管几下混匀; 然后磁分离, 小心吸取上清液至新的 EP 管中, 进行下游实验。

注意事项

- Buffer B 4 $^{\circ}$ C 保存, 可能会出现白色粉末沉淀, 使用前混合均匀, 不影响使用效果。
- 磁珠用前一定要充分混匀。
- 如果要在同等样品量下得到更多 DNA, 可以增加洗脱次数 (不超过 3 次), 也可以适当延长裂解时间 (不超过 30min)。
- 冻存血液应在室温或 37 $^{\circ}$ C 缓慢解冻, 不可高温加热, 以免血凝块形成; 将冻存的血液置于 37 $^{\circ}$ C 摇床中 150-200rpm 融化, 或提前 24 小时解冻, 可提升效果。

常见问题及解决方案

常见问题	可能原因	解决方案
得率低	取样前没有充分混匀用品	取样前充分混匀样品, 使白细胞均匀悬浮于样品中
	结合不充分	结合过程中使磁珠一直处于悬浮状态, 结合时间严格参照说明书
	裂解不充分	由样品粘稠度高或白细胞数目多造成, 减少样品用量
	样品中白细胞含量太低	将样品低速离心, 取白细胞层 50 μ l, 其他试剂用量参照说明书
	样品量过大	严格按照说明书操作, 如果样品量增大, 可等比例增大 Buffer A 和 Buffer B 以及磁珠用量, 适当延长裂解时间, 其他试剂用量不改变
无扩增条带或条带不够亮	TE 影响扩增	用 Tris 将双蒸水 pH 调至 8, 代替 TE 洗脱
	血液粘稠度高, 晾干时间短	延长晾干时间
洗脱液颜色发黄	洗涤过程不充分	如果结合后磁珠呈团状、丝状或颗粒状, 增加点振强度和次数
	裂解不充分	由样品粘稠度高或白细胞数目多造成, 减少样品用量
	样品量过大	严格按照说明书操作, 如果样品量增大, 可等比例增大 Buffer A 和 Buffer B 以及磁珠用量, 适当延长裂解时间, 其他试剂用量不改变