

磁珠法血液基因组 DNA 提取试剂盒

【产品介绍】

本试剂盒通过特异结合液配合蛋白酶 K 处理 10 μ L-200 μ L 新鲜、冷冻或加入抗凝剂血液后，使其中的血液基因组 DNA 特异吸附于硅基磁珠上，洗涤除杂后洗脱得到纯净的 DNA。所得基因组 DNA 可用于酶切、PCR、测序、文库构建等下游分子生物学实验。

【特点】

- 无需裂解红细胞，结合步骤无需添加乙醇。
- 有效去除蛋白质、盐类、脂类等杂质，所得纯化产物纯度高，有效地保持基因组 DNA 的完整性。

【试剂盒组成】

组分	目录号 MP-001-0 (50 次)	目录号 MP-001-1 (50 次)
结合液 MBB	12 mL	12 mL
去蛋白液 MCB	9 mL	9 mL
洗涤液 MWB	12 mL	12 mL
洗脱液 EB	10 mL	10 mL
蛋白酶 K (20 mg/mL)	1.1 mL	1.1 mL
RNase A (10 mg/mL)	/	550 μ L
磁珠混悬液 B	550 μ L	550 μ L

【保存条件】

蛋白酶 K 和 RNase A 保存于-20 $^{\circ}$ C，试剂盒其它成分置于常温干燥处保存。

【操作步骤】

使用前添加 21 mL 无水乙醇到去蛋白液 MCB；添加 48 mL 无水乙醇到洗涤液 MWB，并做好标记。

1. 在干净的 1.5 mL 离心管中加入 10 μ L-200 μ L 抗凝血（血液不足 200 μ L 的建议加生理盐水或 EB 补足 200 μ L）。（如需去除 RNA，可在样品中加入 10 μ L RNase A，室温处理 2 min）。
2. 加入 20 μ L 蛋白酶 K 以及 200 μ L 结合液 MBB 于样品中，涡旋 15 s 充分混匀样品，56 $^{\circ}$ C 水浴或金属浴加热 10 min，期间混匀数次加速裂解。
3. 加入 200 μ L 异丙醇以及 10 μ L 磁珠混悬液 B（磁珠使用前涡旋混匀），涡旋混匀 1 min，静置 2 min。
4. 将离心管短暂离心，置于磁力架上，待磁珠完全吸附于管壁，吸去管内液体。
5. 取下离心管，加入 500 μ L 去蛋白液 MCB（使用前确定已加入无水乙醇），涡旋混匀 2 min 后短暂离心，置于磁力架上，待磁珠完全吸附于管壁，吸去管内液体。

6. 加入 500 μL 洗涤液 MWB (使用前确定已加入无水乙醇), 涡旋混匀 2 min 后短暂离心, 置于磁力架上, 待磁珠完全吸附于管壁, 吸去管内液体。
7. 重复步骤 6 一次。
8. 将离心管置于磁力架上, 室温晾干 5-10 min (也可置于超净台内风干至磁珠表面粗糙无水光, 勿风干过久使磁珠干裂)。
9. 取下离心管, 加入 100-200 μL 洗脱液 EB, 充分涡旋混匀, 置于 65 $^{\circ}\text{C}$ 加热 5 min, 期间涡旋混匀两次。
10. 短暂离心, 将离心管置于磁力架上, 待磁珠完全吸附于管壁, 小心吸取磁珠外的洗脱液于干净的 1.5 mL 离心管中即为目标 DNA, 将其置于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

【使用注意】

- 为避免产物污染或降解, 建议使用干净、无 DNase 污染的器械或耗材。
- 溶液使用前尽量充分混匀, 同时注意避免溶液间交叉污染。
- 如提取细胞为无核细胞, 建议样本用量为 10 μL -200 μL ; 提取细胞为有核细胞 (禽类和两栖类动物), 建议样本用量不超过 20 μL 。
- 样品用量不宜过多, 以免影响提取效果。
- 为保证所提取 DNA 的质量, 使用新鲜的材料, 避免反复冻融; DNA 的质量取决于材料的种类, 保存的时间等。
- 磁珠使用前务必涡旋混匀。
- 冻存或 4 $^{\circ}\text{C}$ 冷藏超过 1 个月的抗凝血提取时可不加 RNase A 去除 RNA。