

# M5 SuperFast Blood Spots DNA Kit

## 磁珠法血片 DNA 提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 SuperFast Blood Spots DNA Kit	96T	MF275-01

### 【储存条件】

室温 (15-30°C)

### 【产品简介】

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的血片 DNA 提取方法，适用于从血片中提取基因组 DNA。在高盐存在时，DNA 结合于硅基包被的 Magbeads 表面。漂洗后，高纯度的 DNA 被洗脱于 Buffer EB 或去离子水中。纯化得到的 DNA 纯度高 (A260/280 的比值在 1.7-1.9 之间)，完整度高 (>15 kb)，可用于二代测序、定量 PCR、芯片检测等下游实验。

该试剂盒可与 32 通道核酸提取仪和 96 通道核酸提取仪进行匹配使用，简单、快速地进行高通量提取，大大降低了实验者的工作量和实验中的人为误差。

### 【自备实验材料】：

- 1) 恒温混匀仪
- 2) 2/15 ml 磁力架
- 3) 32 通道核酸提取仪
- 4) 96 通道核酸提取仪
- 5) 96 DW Plate
- 6) 8 channel Comb
- 7) Spin tips pack
- 8) 无水乙醇



### 【产品组分】

Buffer WL	36 mL
Buffer KL	50 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer GW2 (concentrate)	50 mL
Buffer EB	30 mL
Proteinase K	2×25 mg
Proteinase K Storage Buffer	2×1.25 mL
Magbeads PN	2×1 mL

### 【实验前准备及重要注意事项】

1. 向 25 mg Proteinase K 中加入 1.25 ml Proteinase K Storage Buffer 使其溶解，之后 -20°C 保存。配置好的 Proteinase K 溶液勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
2. 第一次使用前按照试剂瓶标签向 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇并做好标记。
3. Magbeads 严禁冰冻、离心。冰冻、离心可能会对 Magbeads 造成不可逆的损害。

## 【操作流程】

### 一、手动单管操作:

1. 用打孔钳从血斑中取 1 片直径为 6 mm 的血斑或 4 片直径为 3 mm 的血斑（根据实际情况）放入 2.0 ml 的离心管中。
2. 向离心管中加入 20  $\mu$ l Proteinase K 和 300  $\mu$ l Buffer WL，之后将离心管放于 56°C、1200 rpm 的恒温混匀仪上震荡裂解 30 分钟，形成 Lysate，将离心管从恒温混匀仪上取下，短暂离心，取上清。  
**注意：如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡 10 秒钟后放于 65°C 水浴锅中孵育 20 分钟，期间每隔 5 分钟涡旋震荡 10 秒钟。**
3. 将上清液吸至一支新的 2.0 ml 离心管，加入 450  $\mu$ l Buffer KL 和 20  $\mu$ l Magbeads PN。之后将离心管放于 25°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡裂解 10 分钟或将离心管连续颠倒混匀 15 分钟。
4. 将离心管放于磁力架上静置 1 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后充分弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
5. 将离心管从磁力架上取下，加入 750  $\mu$ l Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇）后涡旋点震 1 分钟或涡旋震荡 5 秒钟后放于 25°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 2 分钟（震荡过程中确 Magbeads 处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置 1 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
6. 重复步骤 5。
7. 将离心管从磁力架上取下，加入 750  $\mu$ l Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇）后涡旋点震 1 分钟或涡旋震荡 5 秒钟后放于 25°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 2 分钟（震荡过程中确 Magbeads 处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置 1 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后轻轻颠倒磁力架将离心管盖上的杂质洗落后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
8. 重复步骤 7。
9. 保持离心管固定于磁力架上，用移液器进一步去除离心管底和管盖上的溶液，之后室温放置 5-10 分钟，使乙醇挥发干净。
10. 将离心管从磁力架上取下，加入 50-200  $\mu$ l Buffer EB。涡旋震荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于 56°C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡洗脱 10 分钟，或将离心管放于 56°C 水浴锅中孵育 10 分钟，期间每隔 3 分钟涡旋震荡 10 秒钟。
11. 将离心管放于磁力架上静置 2 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后用移液器将洗脱液转移至新的离心管中-20°C 保存备用。

### 二、与 32 通道核酸提取仪匹配操作:

1. 用打孔钳从血斑中取 1 片直径为 6 mm 的血斑或 4 片直径为 3 mm 的血斑（根据实际情况）放入 2.0 ml 的离心管中。
2. 向离心管中加入 20  $\mu$ l Proteinase K 和 300  $\mu$ l Buffer WL，之后将离心管放于 56°C、1200 rpm 的恒温混匀仪上震荡裂解 30 分钟，形成 Lysate；
3. 按下表向 96DW 深孔板中加入相应试剂：

Position	Reagent
1&7 Colume	Lysate: All Buffer KL: 450 $\mu$ l Magbeads PN: 20 $\mu$ l
2&8 Colume	Buffer GW1: 750 $\mu$ l
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 $\mu$ l
4&10 Colume	Buffer GW2: 750 $\mu$ l
5&11 Colume	Buffer GW2: 750 $\mu$ l
6&12 Colume	Buffer EB: 100 $\mu$ l

4. 将加入试剂的深孔板和磁套放于提取仪的相应位置，运行血片提取程序，约 30 分钟后程序运行结束，取出深孔板和磁套。
5. 将深孔板 6&12 列中的洗脱产物转移至 1.5 ml 离心管中低温保存。

### 三、与 96 通道核酸提取仪匹配操作

1. 用打孔钳从血斑中取 1 片直径为 6 mm 的血斑或 4 片直径为 3 mm 的血斑（根据实际情况）放入 2.0 ml 的离心管中。
2. 向离心管中加入 20  $\mu$ l Proteinase K 和 300  $\mu$ l Buffer WL，之后将离心管放于 56 $^{\circ}$ C、1200 rpm 的恒温混匀仪上震荡裂解 30 分钟，形成 Lysate；
3. 按下表向 96DW 深孔板中加入相应试剂：

Position	Reagent
Plate 1	Lysate: All Buffer KL: 450 $\mu$ l Magbeads PN: 20 $\mu$ l
Plate 2	Buffer GW1: 750 $\mu$ l
Plate 3	Buffer GW1: 750 $\mu$ l
Plate 4	Buffer GW2: 750 $\mu$ l
Plate 5	Buffer GW2: 750 $\mu$ l
Plate 6	Buffer EB: 100 $\mu$ l

4. 将加入试剂的深孔板和磁套放于提取仪的相应位置，运行血片提取程序，约 30 分钟后程序运行结束，取出深孔板和磁套。
5. 将 Plate 6 中的洗脱产物转移至 1.5 ml 离心管中低温保存。

#### 【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。