

M5 Blood Genomic 96 Kit 血液基因组

96 孔板提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Blood Genomic 96 Kit	4x96T	MF316-01

【储存条件】

Buffer RCL 2-8°C, 其他组分室温 (15-30°C)。

【产品简介】

本试剂盒适用于从新鲜或冷冻全血(带有抗凝血剂, 如柠檬酸盐、EDTA 或肝素等)、血浆、血清、血沉棕黄层、骨髓、无细胞体液等样本中的总 DNA, 包括基因组 DNA, 线粒体 DNA 及病毒 DNA。本试剂盒广泛的应用于临床样品的检测, 可以同时处理 96 个样品, 采用 96 孔吸附板可以特异性吸附结合 DNA, 经过纯化的 DNA 产量高、质量好, 最大限度去除蛋白、色素、脂类及其他抑制性杂质污染, 可直接用于 PCR、Real-Time PCR、酶切和 Southern Blot 等实验。

【产品组分】

Buffer RCL	2×500 ml
Buffer GR	2×50 ml
Buffer GL	2×50 ml
Buffer GW1 (concentrate)	2×52 ml
Buffer GW2 (concentrate)	2×50 ml
Buffer GE	60 ml
Proteinase K	90 mg
Proteinase K Storage Buffer	2×5 ml
Bind 96 Plateswith Collection Plates (4	1
Collection Plates (4)	2
Sealing Films	16

【自备试剂】

无水乙醇。

【注意事项】

1. 向 Proteinase K 中加入 9 ml Proteinase K Storage Buffer 使其溶解, -20°C 保存。配制好的 Proteinase K 勿长时间室温放置, 避免反复冻融, 以免影响其活性。
2. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
3. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇。
4. 使用前请检查 Buffer GL 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀, 请将 Buffer GL 于 56°C 水浴重新溶解。
5. 实验前配制 Buffer GL 与 Proteinase K 的混合溶液, 每 200 μl Buffer GL 中加入 20 μl Proteinase K, 该溶液最好现用现配, 在使用前配制时间最多不超过 1 小时。
6. 使用排枪时注意不要打湿 96 孔板孔口, 以防止离心过程中有液体溅出产生交叉污染。

【操作步骤】

1. 样本处理:

1a. 将 200 μ l 样本加到收集板 (Collection Plate) 中。不足 200 μ l 的样本, 加 Buffer GR 补足至 200 μ l。

1b. 样本超过 200 μ l, 且不超过 600 μ l 时, 将血液样本加到收集板中, 加入样本 2 倍体积的 Buffer RCL, 吹打 20 次混匀, 加盖新的封板膜 (Sealing Film), 3,600 rpm (~1,200 \times g) 离心 10 分钟。揭去封板膜, 吸弃上清 (可留下 100 μ l 液体以避免吸到细胞沉淀)。再加入样本 2 倍体积的 Buffer RCL, 吹打 10-20 次混匀, 加盖新的封板膜, 3,600 rpm 离心 10 分钟。揭去封板膜, 吸弃上清, 剩余约 200 μ l 液体。

注意: 1) 在收集板上做好标记, 以方便后续实验对样品的辨识。

2) 如果样品为鸟类的血液, 建议样品用量少于 10 μ l。

2. 配制 Buffer GL 与 Proteinase K 的混合溶液: 按照 200 μ l Buffer GL 中加入 20 μ l Proteinase K 的比例配制, 混匀。

3. 向每孔中加入 220 μ l Buffer GL 与 Proteinase K 的混合溶液, 吹打 20 次, 混匀。加盖新的封板膜, 短暂离心, 使管壁和管盖上的液体集中到管底。

4. 56 $^{\circ}$ C 孵育 10 分钟。

注意: 孵育 10 分钟 DNA 的产量已经达到最大, 继续延长孵育时间对 DNA 产量和纯度没有影响。

5. 揭去封板膜, 加入 200 μ l 无水乙醇, 吹打 20 次, 混匀。短暂离心, 使管壁和管盖上的液体集中到管底。

6. 将步骤 5 所得溶液全部加入到已装入收集板的吸附板 (Bind 96 Plate) 中, 若一次不能加完溶液, 可分多次转入。3,600 rpm 离心 5 分钟。倒掉收集板中的废液, 将吸附板重新放回收集板中。

7. 向吸附板每孔加入 500 μ l Buffer GW1 (**使用前检查是否加入无水乙醇**), 3,600 rpm 离心 5 分钟。倒掉收集板中的废液, 将吸附板重新放回收集板中。

8. 向吸附板每孔加入 500 μ l Buffer GW2 (**使用前检查是否加入无水乙醇**), 3,600 rpm 离心 5 分钟。倒掉收集板中的废液, 将吸附板重新放回收集板中。

9. 3,600 rpm 离心 10 分钟, 倒掉收集板中废液。将吸附板置于室温数分钟以彻底晾干。

注意: 这一步的目的是将吸附板中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应(酶切、PCR 等)

10. 将吸附板置于一个新收集板中, 向吸附板每孔中间部位悬空加入 80-200 μ l Buffer GE 或灭菌水, 室温放置 2-5 分钟, 3,600 rpm 离心 10 分钟, 收集 DNA 溶液, 加盖新的封板膜。-20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

注意: 1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响, 若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5(可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围), pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。

2) 离心之前室温孵育 5 分钟可以增加产量。

3) 因为保存在水中的 DNA 会受到酸性水解作用的影响, 如需长期保存, 推荐用 Buffer GE 洗脱并于 -20 $^{\circ}$ C 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。