

磁珠法唾液 DNA 提取试剂盒

项目号: M666121

储存条件: 室温。

产品内容:

Component	M666121
	96preps
BufferKCL	80mL
BufferGW1 (concentrate)	80mL
BufferGW2 (concentrate)	26mL
BufferMW3	80mL
BufferEB	30mL
ProteinaseK	2×25mg
ProteinaseKStorageBuffer	2×1.25mL
MagbeadsPN	2×1mL

产品简介

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的唾液 DNA 提取方法,适用于从唾液中 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 纯度好(A260/280 的比值在 1.7-1.9 之间),完整度高(>15kb),可用于二代测序、定量 PCR、芯片 检测等下游实验。

自备仪器、试剂

- 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) 8channelComb
- 7) Spintips pack
- 8) 无水乙醇

实验前准备及重要注意事项

1. 向 25mgProteinaseK 中加入 1.25 ml Proteinase KStorage Buffer 使其溶解,之后 -20℃ 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。

操作步骤

I. 手动单管操作

1. 依次向 2.0 mL 离心管中加入 20 μ l 蛋白酶 K、350 μ l 唾液和 500 μ l BufferKCL。
2. 涡旋震荡混匀后，将离心管放于 65℃、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡裂解 20 分钟，形成裂解液。

注意：如无恒温混匀仪，将离心管涡旋震荡 10 秒钟后放于 65℃ 水浴锅中孵育 20 分钟，期间每隔 5 分

钟涡旋震荡 10 秒钟。

3. 将离心管从恒温混匀仪上取下，短暂离心后加入 20 μ l MagbeadsPN。之后将离心管放于 25℃、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 μ 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℃、1600rpm 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 μ 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℃、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. 保持离心管固定于磁力架上，向离心管中加入 750ul Buffer MW3，待悬起的磁珠重新吸附于磁力架上后立即充分弃去溶液。

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 μ l BufferEB。涡旋震荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于 56℃、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡洗脱 10 分钟，或将离心管放于 56℃ 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℃ 保存备用。

II. 与 32 通道核酸提取仪匹配

1. 按下表向 96DW 深孔板中加入相应试剂

Position	Reagent
1&7 Colume	ProteinaseK:20 μ l Sample:350 μ l BufferKCL:500 μ l MagbeadsPN:20 μ l
2&8 Colume	Buffer GW1: 750 μ l
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 μ l
4& 10 Colume	Buffer GW2: 750 μ l

5& 11 Colume	Buffer MW3: 750 µl
6& 12 Colume	Buffer EB: 100 µl

4. 将加入试剂的深孔板和磁套放于 32 通道核酸提取仪的相应位置，运行唾液提取程序，约 28 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 1.5ml 离心管中低温保存。

III. 与 96 通道核酸提取仪匹配

1. 按下表向 96DW 深孔板中加入相应试剂

Position	Reagent
Plate 1	ProteinaseK:20µl Sample:350µl BufferKCL:500µl MagbeadsPN:20µl
Plate 2	BufferGW1: 750 µl
Plate 3	BufferGW1: 750 µl
Plate4	BufferGW2: 750 µl
Plate 5	BufferMW3: 750 µl
Plate 6	Buffer EB: 100 µl

2. 将加入试剂的深孔板和磁套放于 96 通道核酸提取仪的相应位置，运行唾液提取程序，约 28 分钟后程序运行结束，取出深孔板和磁套。

3. 将 Plate6 中的洗脱产物转移至 1.5ml 离心管中低温保存。