



Magbead Blood Spots DNA Kit

磁珠法血片DNA提取试剂盒

目录号： CW2504S（96 preps）

保存条件： 室温（15-30℃）

产品内容

Component	CW2504S 96 preps
Buffer WSL	40 mL
Buffer MSL	40 mL
Buffer CW1 (concentrate)	90 mL
Buffer GW1 (concentrate)	40 mL
Buffer GW2 (concentrate)	50 mL
Buffer EB	30 mL
Proteinase K	4×1.25 mL
Magbeads V3	2×1 mL

产品简介

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纯度好（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。

自备仪器、试剂

- 1) 恒温混匀仪——货号：CW2593
- 2) 2/15 ml磁力架——货号：CW2594
- 3) 32通道核酸提取仪——货号：CWE2100/CWE3200
- 4) 96通道核酸提取仪——货号：CWE960
- 5) 96 DW Plate——货号：CW2523
- 6) 8 channel Comb——货号：CW2524
- 7) Spin tips pack——货号：CW2532
- 8) 无水乙醇

实验前准备及重要注意事项

1. 第一次使用前按照试剂瓶标签向Buffer CW1、Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇并做好标记。
2. 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. 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40 μ L Proteinase K和300 μ L Buffer WSL，之后将离心管放于75 $^{\circ}$ C、1200 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解45分钟，形成Lysate，将离心管从恒温混合仪上取下，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75 $^{\circ}$ C水浴锅中孵育30分钟，期间每隔10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300 μ L Buffer MSL、300 μ L 异丙醇和20 μ L Magbeads V3。之后将离心管放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解15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900 μL Buffer CW1（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 $^{\circ}\text{C}$ 、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. 将离心管从磁力架上取下，加入500 μL 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 $^{\circ}\text{C}$ 、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）。
7. 将离心管从磁力架上取下，加入900 μL 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 $^{\circ}\text{C}$ 、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. 将离心管从磁力架上取下，加入300 μL 75%乙醇后涡旋点震1分钟或涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}\text{C}$ 、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）。
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 μL Buffer EB。涡旋震荡使磁珠完全悬浮于洗脱液中后将其放于56 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟，或将离心管放于56 $^{\circ}\text{C}$ 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 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

II、与CWE2100匹配

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40 μL Proteinase K和300 μL Buffer WSL，之后将离心管放于75 $^{\circ}\text{C}$ 、1200 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解45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 MSL: 300 µL 异丙醇: 300 µL Magbeads V3: 20 µL
2&8 Colume	Buffer CW1: 900 µL
3&9 Colume	Buffer GW1: 500 µL
4&10 Colume	Buffer GW2: 900 µL
5&11 Colume	75%乙醇: 300 µL
6&12 Colume	Buffer EB: 70 µL

4. 将加入试剂的深孔板和磁套放于CWE2100/CWE3200的相应位置，运行血片提取程序，约40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。

III、与CWE960匹配

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40 µL Proteinase K和300 µL Buffer WSL，之后将离心管放于75℃、1200 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解45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 MSL: 300 µL 异丙醇: 300 µL Magbeads V3: 20 µL
Plate 2	Buffer CW1: 900 µL
Plate 3	Buffer GW1: 500 µL
Plate 4	Buffer GW2: 900 µL
Plate 5	75%乙醇: 300 µL
Plate 6	Buffer EB: 70 µL

4. 将加入试剂的深孔板和磁套放于CWE960的相应位置，运行血片提取程序，约40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。