

YALEPIC® 磁珠法血斑 DNA 提取试剂盒

YALEPIC® MagEVO Blood Spots DNA Extraction Kit

产品货号: YM26008

产品保存及运输条件:

常温运输; 10~30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC® MagEVO Blood Spots DNA Extraction Kit 采用具有独特分离作用的纳米磁珠和特制的缓冲液系统, 从血斑样本中提取基因组 DNA。试剂盒具有提取效率高、重复性强等优点, 得到的 DNA 纯度高、完整度高、质量稳定可靠, 可进行定量 PCR、基因克隆、NGS、印迹杂交等实验, 适用于高通量工作站的自动化提取。

产品组分

序号	产品组分	YM26008 (96 T)
①	WSS Buffer	35 ml
②	YBL Buffer	35 ml
③	Wash Buffer CFA	84 ml
④	Wash Buffer GA	26 ml
⑤	Wash Buffer GB	36 ml
⑥	Magbeads PM	2 × 1 ml
⑦	Proteinase K	3 × 1.3 ml
⑧	YEB Buffer	25 ml

自备试剂及仪器

异丙醇、无水乙醇; 2/15 ml 磁力架; 恒温混匀仪或涡旋振荡仪; 恒温水浴锅; Nuclease-free 移液器吸头; 1.5 ml/2.0 ml Nuclease-free 离心管; 核酸提取仪。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险。
2. 首次使用前向 **Wash Buffer CFA**、**Wash Buffer GA** 和 **Wash Buffer GB** 中加入标签指定量的无水乙醇。
3. 使用前若 **YBL Buffer** 出现结晶沉淀，需在 56°C 水浴锅中重新溶解，待用。
4. **Magbeads PM** 请勿冻存及高速离心，使用前只需涡旋振荡数秒混匀。

实验流程

● 手动离心管操作：

1. 向 2.0 ml 离心管（自备）中加入 300 μ l **WSS Buffer** 和 40 μ l **Proteinase K**。
2. 向上一步的离心管中加入 3-5 张直径为 3 mm 的血片后，将离心管放入 75°C、1,300 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 45 min。（注：如无恒温混匀仪，离心管涡旋振荡 10 s 后将其放入 56°C 水浴锅或金属浴中孵育 45 min。期间每隔 10 min 涡旋振荡 5 s）
3. 将离心管取出，快速离心后，将上清液转移至新的离心管（自备）中，加入 300 μ l **YBL Buffer**、300 μ l **异丙醇**（自备）和 20 μ l 充分混匀的 **Magbeads PM** 后，涡旋振荡 5 s 混匀后，将离心管置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 15 min。（注：若样品数量较多，可将异丙醇和 **Magbeads PM** 配制成预混液，向入样品中加入 320 μ l 充分混匀的预混液）
4. 将离心管置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附于离心管侧壁后彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
5. 取下离心管，向管中加入 900 μ l **Wash Buffer CFA**（使用前检查是否加入无水乙醇），旋涡振荡 5 s 后，置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。再将离心管置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附后，缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落后，彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
6. 取下离心管，向管中加入 500 μ l **Wash Buffer GA**（使用前检查是否加入无水乙醇），旋涡振荡 5 s 后，置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。再将离心管置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附后，缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落后，彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
7. 取下离心管，向管中加入 900 μ l **Wash Buffer GB**（使用前检查是否加入无水乙醇），旋涡振荡 5 s 后，置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min（震荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附后，缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落后，彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。

8. 取下离心管，向管中加入 300 μ l **75%乙醇**（自备），涡旋振荡 5 s 后，置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 2 min（振荡过程中确保磁珠处于混匀状态）。之后将离心管放于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附后，缓慢颠倒磁力架将离心管盖上的物质洗落后，彻底弃去溶液（保持离心管固定于磁力架上）。
9. 将离心管重新置于磁力架上，用移液器吸弃管底和管盖上的溶液。保持离心管固定于磁力架上静置 5 ~ 10 min，使乙醇充分挥发。

注：

- 1) 乙醇残留会影响后续的酶促反应，应将残余的乙醇彻底去除。
 - 2) 如果离心管侧壁上有液珠，可向离心管中加入 800 μ l 无水乙醇（自备）。盖盖后颠倒磁力架（保持离心管固定于磁力架上），之后彻底弃去无水乙醇。
10. 将离心管从磁力架上取下，向离心管中加入 **YEB Buffer**（新鲜血液样本和组织样本建议加 50-200 μ l **YEB Buffer**；其余样本建议加 30-100 μ l **YEB Buffer**），涡旋振荡混匀后将离心管置于 56°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡 10 min（或将离心管置于 56°C 水浴锅中孵育 10 min，期间每 3 min 涡旋振荡 10 s）。（注：若下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感，可以用自备的无 **菌 Nuclease-free ddH₂O** 洗脱。）
 11. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，待 **Magbeads PM** 完全吸附后，用移液器将洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管（自备）中，-20°C 保存。

● 全自动核酸纯化仪：

（根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定，以下流程以 YALEPIC® Pure 32 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明）

1. 向 2.0 ml 离心管（自备）中加入 300 μ l **WSS Buffer** 和 40 μ l **Proteinase K**。
2. 向上一步的离心管中加入 3-5 张直径为 3 mm 的血片后，将离心管放入 75°C、1,300 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 45 min。（注：如无恒温混匀仪，离心管涡旋振荡 10 s 后将其放入 56°C 水浴锅或金属浴中孵育 45 min。期间每隔 10 min 涡旋振荡 5 s）
3. 将离心管取出，快速离心后，获得**裂解上清液**。
4. 按下表向 96 深孔板中加入试剂：

列 数	试 剂	体 积
第 1、7 列	Wash Buffer CFA（使用前检查是否加入无水乙醇）	900 μ l
第 2、8 列	YBL Buffer	300 μ l
	裂解上清液	约 320 μ l
	异丙醇（自备）	300 μ l
	Magbeads PM	20 μ l
第 3、9 列	Wash Buffer GA（使用前检查是否加入无水乙醇）	500 μ l
第 4、10 列	Wash Buffer GB（使用前检查是否加入无水乙醇）	900 μ l
第 5、11 列	75%乙醇（自备）	300 μ l
第 6、12 列	YEB Buffer	70 μ l

5. 将加好样本的深孔板放入核酸提取仪中，装上磁棒套，确认磁棒套安装到位后，即可启动程序 **YM26008 Blood Spots DNA.ABC**。
6. 程序结束后，取出深孔板，将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管（自备）中，如不立即进行下游实验，可置于-20°C 保存。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断