

提取方案3： 8mm1片<样本量≤8mm2片

1. 取1粒铅珠，放入2ml离心管中，加入直径8mm干血片2片（血片需剪碎），再覆盖1粒铅珠，再加入700 μL裂解液、40 μL蛋白酶K，旋涡振荡混匀，65℃持续振荡（1500 rpm）60 分钟。
2. 孵育结束后瞬时离心，将全部上清转移至新的2ml离心管中。
3. 加入1ml吸附液和40μL磁珠，旋涡振荡混匀，于翻转摇匀仪上翻转10分钟（50rpm）进行DNA吸附。

- * 磁珠使用前需充分混匀后立刻吸取。如旋涡振荡混匀，连续振荡时间不宜超过30秒，可多次短时振荡。磁珠使用前后可于磁力架上存放。
- * DNA吸附也可静置进行，静置过程中第3分钟、第6分钟分别旋涡振荡混匀1次。
- * 将离心管置于磁力架上，反复颠倒磁力架，将可能留存在管盖部分的磁珠冲刷至管内溶液中，静置磁力架磁吸1分钟或至溶液澄清，弃去管盖和管内上清液，注意不要触碰磁珠。

4. 加入800μL洗涤液1，高速旋涡振荡1分钟，将离心管置于磁力架上，反复颠倒磁力架，将可能留存在管盖部分的磁珠冲刷至管内溶液中，静置磁力架磁吸1分钟或至溶液澄清，弃去管盖和管内上清液，注意不要触碰磁珠。
5. 加入800μL80%乙醇，按照步骤4的方法洗涤一次。
6. 加入800μL80%乙醇，按照步骤4的方法再次洗涤一次。
7. 将离心管置于磁力架上，室温开盖干燥5~10分钟至乙醇挥发干净。

- * 因实验环境不尽相同，干燥过程中注意观察磁珠状态。如磁珠仍可流动或表面发亮，表明未干燥充分；如磁珠表面无光泽或颜色由棕色变为浅棕色，表明已干燥充分；如磁珠颜色由棕色变为浅黄色或表面干裂，表明过分干燥，过分干燥会降低DNA洗脱效率，应避免磁珠过分干燥。

8. 加入40~100μl洗脱液，充分混匀，于56℃温浴10分钟进行DNA洗脱，第5分钟旋涡振荡混匀1次。洗脱结束后混匀磁珠，将离心管置于磁力架上，磁吸 1 分钟或至溶液澄清，小心吸取上清，进行下游实验，或于-20℃保存待用。

干血片DNA磁珠法提取试剂盒
(手工方案)

产品货号：MMCF/100（S）

试剂组成	规格
磁珠	1. 1ml×2
蛋白酶K	1. 1ml×2
裂解液	37ml×1
吸附液	52ml×1
洗涤液1	36ml×1
洗脱液	10ml×1

注：如选购封装试剂请与志昂生物联系

储存条件与有效期限：

- 试剂盒请于18~28 °C保存和运输。
- 蛋白酶K于4℃保存。
- 试剂盒有效期12个月。

产品特点：

根据需求，本试剂盒可以实现干血片不同样本用量的提取，包括：

- 方案1：样本量≤6mm1片的干血片DNA提取方案
- 方案2：6mm1片<样本量≤8mm1片的干血片DNA提取方案
- 方案3：8mm1片<样本量≤8mm2片的干血片DNA提取方案

溶液配制：

● 洗涤液1配制：

1. 按照3：4（V：V）比例在洗涤液1中加入无水乙醇，例如：100次试剂盒中36ml洗涤液1加入48ml无水乙醇。
2. 配制好洗涤液后将瓶盖拧紧以防止无水乙醇挥发。如试剂盒不能在一个月内用完，可根据使用情况分次配制。

● 80%乙醇配制【需自配】：

按照2：8（V：V）比例配制，例如：20 ml高纯水加入80ml无水乙醇。

样本用量：

● 样本量≤6mm1片：

适用于“方案1”，属于常归样本用量。

● 6mm1片<样本量≤8mm1片：

适用于“方案2”，样本用量稍多，方案1的裂解效率不够，需增加裂解液用量，以及添加1粒铅珠辅助裂解，并且需要将样本剪碎[®]，这样更有利于DNA释放。

● 8mm1片<样本量≤8mm2片：

适用于“方案3”，样本用量过多，方案2的裂解吸附能力均不足，试剂用量需翻倍（洗涤液及洗脱液除外），铅珠增加到2粒，样本仍需要剪碎[®]再用。

※样本剪碎程度：直径6mm的血片可直接使用，直径大于6mm则需剪碎。例如：直径为8mm1片的血片可以按照十字交叉方式剪成4份，或直接使用6mm2片。

实验前准备：

1. 检查裂解液是否有固体析出，如有析出，请置于50℃温浴中溶解并摇匀，平衡室温后即可使用。
2. 【可选】配制裂解液和蛋白酶K的预混液：裂解液和蛋白酶 K 按体积比350：20的比例混合后待用，预混液需现用现配。
3. 准备振荡金属浴调温至65℃，振荡频率1500rpm
4. 如选择“提取方案2”或“提取方案3”，方案中用到的铅珠则需要单独购买（货号：YHGZ-06）。

提取方案1：样本量≤6mm1片

1. 取直径6mm干血片1片，放入1.5ml离心管中，再加入300 μL裂解液、20 μL蛋白酶K，旋涡振荡混匀，65℃持续振荡（1500 rpm）60 分钟。
2. 孵育结束后瞬时离心，将全部上清转移至新的1.5ml离心管中。
3. 加入500μL吸附液和20μL磁珠，旋涡振荡混匀，于翻转摇匀仪上翻转10分钟（50rpm）进行DNA吸附。

- * 磁珠使用前需充分混匀后立刻吸取。如旋涡振荡混匀，连续振荡时间不宜超过30秒，可多次短时振荡。磁珠使用前后可于磁力架上存放。
- * DNA吸附也可静置进行，静置过程中第3分钟、第6分钟分别旋涡振荡混匀1次。
- * 将离心管置于磁力架上，反复颠倒磁力架，将可能留在管盖部分的磁珠冲刷至管内溶液中，静置磁力架磁吸1分钟或至溶液澄清，弃去管盖和管内上清液，注意不要触碰磁珠。

4. 加入800μL洗涤液1，高速旋涡振荡1分钟，将离心管置于磁力架上，反复颠倒磁力架，将可能留在管盖部分的磁珠冲刷至管内溶液中，静置磁力架磁吸1分钟或至溶液澄清，弃去管盖和管内上清液，注意不要触碰磁珠。
5. 加入800μL80%乙醇，按照步骤4的方法洗涤一次。
6. 加入800μL80%乙醇，按照步骤4的方法再次洗涤一次。
7. 将离心管置于磁力架上，室温开盖干燥5~10分钟至乙醇挥发干净。

- * 因实验环境不尽相同，干燥过程中注意观察磁珠状态。如磁珠仍可流动或表面发亮，表明未干燥充分；如磁珠表面无光泽或颜色由棕色变为浅棕色，表明已干燥充分；如磁珠颜色由棕色变为浅黄色或表面干裂，表明过分干燥，过分干燥会降低DNA洗脱效率，应避免磁珠过分干燥。

8. 加入40~100μl洗脱液，充分混匀，于56℃温浴10分钟进行DNA洗脱，第5分钟旋涡振荡混匀1次。洗脱结束后混匀磁珠，将离心管置于磁力架上，磁吸 1 分钟或至溶液澄清，小心吸取上清，进行下游实验，或于-20℃保存待用。

提取方案2：6mm1片<样本量≤8mm1片

1. 取直径8mm干血片1片，放入2ml离心管中，加入1粒铅珠，再加入350 μL裂解液、20 μL蛋白酶K，旋涡振荡混匀，65℃持续振荡（1500 rpm）60 分钟。
2. 孵育结束后瞬时离心，将全部上清转移至新的1.5ml离心管中。
3. 加入500μL吸附液和20μL磁珠，旋涡振荡混匀，于翻转摇匀仪上翻转10分钟（50rpm）进行DNA吸附。

- * 磁珠使用前需充分混匀后立刻吸取。如旋涡振荡混匀，连续振荡时间不宜超过30秒，可多次短时振荡。磁珠使用前后可于磁力架上存放。
- * DNA吸附也可静置进行，静置过程中第3分钟、第6分钟分别旋涡振荡混匀1次。
- * 将离心管置于磁力架上，反复颠倒磁力架，将可能留在管盖部分的磁珠冲刷至管内溶液中，静置磁力架磁吸1分钟或至溶液澄清，弃去管盖和管内上清液，注意不要触碰磁珠。

4. 加入800μL洗涤液1，高速旋涡振荡1分钟，将离心管置于磁力架上，反复颠倒磁力架，将可能留在管盖部分的磁珠冲刷至管内溶液中，静置磁力架磁吸1分钟或至溶液澄清，弃去管盖和管内上清液，注意不要触碰磁珠。
5. 加入800μL80%乙醇，按照步骤4的方法洗涤一次。
6. 加入800μL80%乙醇，按照步骤4的方法再次洗涤一次。
7. 将离心管置于磁力架上，室温开盖干燥5~10分钟至乙醇挥发干净。

- * 因实验环境不尽相同，干燥过程中注意观察磁珠状态。如磁珠仍可流动或表面发亮，表明未干燥充分；如磁珠表面无光泽或颜色由棕色变为浅棕色，表明已干燥充分；如磁珠颜色由棕色变为浅黄色或表面干裂，表明过分干燥，过分干燥会降低DNA洗脱效率，应避免磁珠过分干燥。

8. 加入40~100μl洗脱液，充分混匀，于56℃温浴10分钟进行DNA洗脱，第5分钟旋涡振荡混匀1次。洗脱结束后混匀磁珠，将离心管置于磁力架上，磁吸 1 分钟或至溶液澄清，小心吸取上清，进行下游实验，或于-20℃保存待用。