

版本号:250305

Magnetic Universal Tissue/Cell/Blood/Bateria DNA Kit**磁珠法通用组织/细胞/血液/细菌 DNA 提取试剂盒**

目录号: CZ13

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次 (CZ1301)	100 次 (CZ1302)
裂解液 TL	室温	11 ml	20 ml
结合液 CB	室温	11 ml	20 ml
去蛋白液 PE	室温	32 ml 第一次使用前按瓶子标签指示加无水乙醇	64 ml
漂洗液 WB	室温	13 ml 第一次使用前按瓶子标签指示加无水乙醇	25 ml
蛋白酶 K	4°C	1 ml	1 ml × 2
AidBeads 磁珠	4°C	500 µl	1 ml
洗脱缓冲液 EB	室温	10 ml	10 ml

本试剂盒全部组分常温运输, 收到后按指定温度储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. AidBeads 严禁冰冻、离心。冰冻和离心可能会对 AidBeads 造成不可逆的损害。
2. 所有的溶液应该是澄清的, 如果环境温度低时溶液可能形成沉淀, 此时不应该直接使用, 可在 37°C 水浴加热几分钟, 即可恢复澄清。使用前应该恢复到室温。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ 产品介绍:

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统, 从各种组织、细胞、鼠尾、血液、革兰氏阳性/阴性细菌、昆虫等样品中提取基因组 DNA。纯化得到的 DNA 纯度好杂质抑制少, 完整度高 (>15 kb), 可直接用于二代测序、定量 PCR、酶切、芯片检测等下游实验。如果需要高通量自动化仪器配套提取, 艾德莱公司可以提供整合方案进行大规模自动化提取, 大大降低了实验者的工作量和实验中的人为误差。

❖ 操作步骤

⇒ 第一次使用前请先在去漂洗液 WB 瓶和去蛋白液 PE 瓶中加入无水乙醇, 加入后请及时打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!

1. 组织培养细胞

a. 收集约 10^5 - 10^6 悬浮细胞到一个 1.5 ml 离心管; 对于贴壁细胞, 应该先用胰蛋白酶消化后吹打下来收集。

b. 13, 000 rpm 离心 10 sec, 使细胞沉淀下来。吸弃上清, 留下细胞团。

c. 加 200 μ l $1\times$ PBS (或者生理盐水 0.9%氯化钠溶液) 重悬洗涤细胞, 13, 000 rpm 离心 10 sec, 使细胞沉淀下来。完全吸弃上清, 将细胞沉淀重悬于 180 μ l 裂解液 TL 中。

d. 加入 20 μ l 蛋白酶 K 溶液, 充分混匀, 再加入 200 μ l 结合液 CB, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 在 70°C 放置 10 min。

▲ 可选做步骤: 如果 RNA 残留较多, 需要去除 RNA, 可以在加入 200 μ l 结合液 CB 前加 5 μ l RNase A (100 mg/ ml, 艾德莱货号: DN52), 振荡混匀, 室温放置 10 min。

e. 接操作步骤项下 6。

2. 动物组织 (例如鼠肝脑)

a. 将 20-50 mg 新鲜或者解冻的组织用解剖刀切成小碎块 (切成小块可以提高产量) 或者在液氮中研磨组织成细粉后, 转入装有 180 μ l 组织裂解液 TL 的 1.5 ml 离心管中, 用剪大口径的吸头吹打混匀。

b. 加入 20 μ l 蛋白酶 K, 立刻涡旋振荡充分混匀。

c. 将裂解物放置在 55°C 水浴 1-3 小时或者直到组织消化完全, 期间轻柔的振荡几次帮助裂解。

▲ 可选做步骤: 如果 RNA 残留较多, 需要去除 RNA, 可以在加入 200 μ l 结合液 CB 前加 5 μ l RNase A (100 mg/ ml, 艾德莱货号: DN52), 振荡混匀, 室温放置 10 min。

d. 加入 200 μ l 结合液 CB, **立刻涡旋振荡充分混匀**, 70°C 放置 10 min。

e. 接操作步骤项下 6。

3. 动物组织（鼠尾）

a. 将 0.2-0.5 cm 的鼠尾巴尖(即 20-50 mg)剪碎（一定要剪 0-2 cm 范围内的尾巴尖，否则裂解效果不好），或者在液氮中研磨成细粉后，转入装有 180 μ l 组织裂解液 TL 的 1.5 ml 离心管中，用剪大口径的吸头吹打混匀。

b. 加入 20 μ l 蛋白酶 K，立刻涡旋振荡充分混匀。

c. 将裂解物放置在 55°C 水浴 3 小时或者直到组织消化完全，期间轻柔的振荡几次帮助裂解。

▲ 可选做步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可以在加入 200 μ l 结合液 CB 前加 5 μ l RNase A (100 mg/ml，艾德莱货号：DN52)，振荡混匀，室温放置 10 min。

d. 可选做：用剪大口径的吸头抽打裂解物 2-3 次帮助裂解。

a. 加入 200 μ l 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在 70°C 放置 10 min。

e. 13,000 rpm 离心 5 min，将上清转入新的 1.5 ml 离心管。

f. 接操作步骤项下 6。

4. 全血

a. 取 200 μ l 新鲜、冷冻或加入各种抗凝剂的血液，放入 1.5 ml 离心管。

▲ 如果全血起始量小于 200 μ l，则用生理盐水或者 1 \times PBS 补足到 200 μ l。如果起始量介于 200 μ l-300 μ l 之间，则后续操作需要按照比例增加试剂用量。如果起始量介于 300 μ l-1 ml 之间，则需要先进行红细胞裂解操作（见本说明书后附录）。

▲ 如果处理血样为禽类、鸟类、两栖类或更低级生物的抗凝血液，其红细胞为有核细胞，因此处理量仅用 5-20 μ l，可加裂解液 TL 补足到 200 μ l 后进行后续步骤。

b. 加入 20 μ l 蛋白酶 K 溶液，充分混匀，再加入 200 μ l 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，在 70°C 放置 10 min。溶液应变清亮（但颜色偏黑色）。

▲ 可选做步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可以在加入 200 μ l 结合液 CB 前加 5 μ l RNase A (100 mg/ml，艾德莱货号：DN52)，振荡混匀，室温放置 10 min。

c. 接操作步骤项下 6。

5. 细菌

a. 取 0.5-2 ml 培养菌液（最多不超过 2×10^9 个细胞），13,000 rpm，离心 30 sec，尽可能的吸弃上清，收集菌体。

▲ 起始处理量可以根据细菌密度、细胞种类、预期产量进行调整，但是离心吸附柱最大吸附能力是 30 µg 基因组 DNA，如果菌体过量超过最大吸附能力，反而会严重降低产量。

b. 加入 200 µl 生理盐水或者 1×PBS 重悬，13,000 rpm 离心 30 sec，吸弃上清。将细胞振荡或者吹打充分重悬于 180 µl 1×PBS 中。

▲ 注意：对于较难破壁的革兰氏阳性菌，可略过 b 步骤，加入溶菌酶进行破壁处理，具体方法为：加入 150 µl 缓冲液(20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM Na₂-EDTA; 1.2% Triton X-100 振荡或者吹打至菌体彻底悬浮；加 30 µl 溶菌酶(50 mg/ml, 艾德莱货号：RN56)，混匀，37°C 处理 30 min 以上。

c. 加入 20 µl 蛋白酶 K 溶液，充分混匀，再加入 200 µl 结合液 CB，**立刻涡旋振荡充分混匀**，在 70°C 放置 10 min。

▲ 可选做步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可以在加入 200 µl 结合液 CB 前加 5 µl RNase A (100 mg/ml, 艾德莱货号：DN52)，振荡混匀，室温放置 10 min。

d. 接操作步骤项下 6。

6. 冷却后加入 200 µl 异丙醇和 10 µl 磁珠悬浮液，振荡混匀 1 min。室温放置 5 min，期间可振荡涡旋混匀几次，使磁珠和核酸充分结合。

▲ 为了确保磁珠彻底重悬，请在使用前振荡混匀。

7. 将离心管置于磁力架，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，磁分离完全后，倾倒废液或者吸弃废液(包括管盖及管底废液)。

8. 将磁场撤去，加入 900 µl 去蛋白液 PE (请先检查是否已加入无水乙醇!)。颠倒混匀数十次后，将离心管置于磁场中，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，磁分离完全后，倾倒废液或者吸弃废液(包括管盖及管底废液)。

9. 将磁场撤去，加入 600 µl 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!)。颠倒混匀数十次后，将离心管置于磁场中，颠倒混匀，回收管盖残留磁珠，磁分离完全后，将管底和管盖的废液完全吸弃干净 (请注意用吸头吸弃废液，此步骤倾倒废液可能会有残留)。

10. 重复步骤 9 一次。

11. 室温下开盖晾干 5-10 min。

▲ 注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱核酸。

12. 洗脱：加入 50-100 µl 洗脱液 EB，轻弹混匀，室温 (60°C 可以提高一些产量) 温育 5 min。每隔 2-3 min 轻弹离心管几下混匀。然后磁分离完全，小心吸取上清液至新的离心管中，进行下游实验或者置 -20°C 备用。