

## SteadyPure Mag 组织 & 细胞基因组 DNA 提取试剂盒（磁珠法）

SteadyPure Mag Tissue & Cells Genomic DNA Extraction Kit ( Magnetic Beads )

Code No. AG21206

**包装量:** 50 rxns  
**保存温度:** Package 3-1 : -20℃  
Package 3-2 : 4℃  
Package 3-3 : 室温 ( 15 ~ 30℃ )

### ➤ 产品概述

本产品旨在给客户提供一种快速、简单、高质量的基因组 DNA ( gDNA ) 制备方法，基于高结合力超顺磁性磁珠和独特的缓冲液系统，可从动物组织和培养细胞等生物样品中提取得到高产量、高纯度的 gDNA，使用本产品提取获得的 gDNA 可直接用于 PCR 扩增、DNA 序列分析、芯片检测、文库构建等实验。同时，本产品既可用于单管手工法提取，也可配合全自动核酸提取仪使用，实现核酸的高通量提取。

### ➤ 安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

**【注意：使用后溶液需要收集在废液桶中专门处理。】**

如果 *Mag Buffer LS*、*Mag Buffer BS* 或 *Mag Buffer DWA* 不小心溅出，请立刻用清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

### ➤ 产品组成<sup>\*1</sup>

|                                                |       |
|------------------------------------------------|-------|
| RNase A Solution ( 10 mg/ml )                  | 1 ml  |
| Proteinase K ( 20 mg/ml )                      | 1 ml  |
| <i>MagPure</i> DNA Beads <sup>*2</sup>         | 1 ml  |
| <i>Mag Buffer LS</i> <sup>*3</sup>             | 18 ml |
| <i>Mag Buffer BS</i> <sup>*3</sup>             | 18 ml |
| <i>Mag Buffer DB</i> <sup>*4</sup>             | 5 ml  |
| <i>Mag Buffer DWA</i> <sup>*5</sup>            | 16 ml |
| RNase free water for 70% ethanol <sup>*6</sup> | 21 ml |
| <i>Mag</i> Elution Buffer                      | 10 ml |
| RNase Free Water <sup>*7</sup>                 | 10 ml |

\*1: 组分中 RNase A Solution ( 10 mg/ml ) 和 Proteinase K ( 20 mg/ml ) 包装于 Package 3-1 中，放置于 -20℃ 保存；组分中 *MagPure* DNA Beads 包装于 Package 3-2，放置于 4℃ 保存；其余组分均包装于 Package 3-3 中，室温 ( 15 ~ 30℃ ) 保存。

\*2: *MagPure* DNA Beads 避免冻存或使其干裂，每次取用前应涡旋振荡混匀使其充分悬浮，否则可能会导致吸取磁珠的量不一致从而影响磁珠结合 DNA 的能力。

\*3: *Mag Buffer LS* 和 *Mag Buffer BS* 若出现沉淀，请于 50-60℃ 加热溶解，待溶液恢复至室温后使用。

\*4: *Mag Buffer DB* 在首次使用前，请添加 20 ml 的异丙醇 ( *Mag Buffer DB* 与异丙醇体积比为 1 : 4 )，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

\*5: *Mag Buffer DWA* 在首次使用前，请添加 24 ml 的无水乙醇 ( *Mag Buffer DWA* 与无水乙醇体积比为 2 : 3 )，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

\*6: RNase free water for 70% ethanol 在首次使用前，请添加 49 ml 的无水乙醇 ( RNase free water for 70% ethanol 与无水乙醇体积比为 3 : 7 )，配成 70% 的乙醇，混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

\*7: RNase Free Water 开启后建议保存于 -20℃ 。

## ➤ 保存及运输

**保存温度：** Package 3-1 -20℃ 保存  
Package 3-2 4℃ 保存  
Package 3-3 室温（15-30℃）保存

**运输温度：** Package 3-1 干冰或-20℃冰袋运输  
Package 3-2 室温运输  
Package 3-3 室温运输

## ➤ 实验前准备

1. 自备：异丙醇、无水乙醇、PBS、灭菌水、1.5 ml 离心管、水浴锅、磁力架或 96 深孔板、高通量设备。
2. *Mag Buffer DB* 在首次使用前，请添加 20 ml 的异丙醇（*Mag Buffer DB* 与异丙醇体积比为 1 : 4），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。
3. *Mag Buffer DWA* 在首次使用前，请添加 24 ml 的无水乙醇（*Mag Buffer DWA* 与无水乙醇体积比为 2 : 3），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。
4. 70% 乙醇配制：向 RNase free water for 70% ethanol 中加入 49 ml 的无水乙醇（RNase free water for 70% ethanol 与无水乙醇体积比为 3 : 7），盖上瓶盖，颠倒混匀。在瓶子上做好标记，室温下保存。

## ➤ 注意事项

1. 本产品既可用于单管手工法提取，也可配合全自动核酸提取仪使用，实现核酸的高通量提取。如果配合全自动核酸提取仪使用，可能需要根据实际情况对自动提取的程序进行调整。
2. *MagPure DNA Beads* 切勿冻存或使其干裂，否则可能会出现磁珠团聚、官能团脱落、磁珠形态发生变化等问题，影响磁珠结合 DNA 的能力。
3. 用移液器吸取上清液时，应注意不要触碰磁珠，避免磁珠的损失，从而影响 DNA 的收量。
4. 一般情况下，磁性分离 1 min 可使磁珠与 Buffer 彻底分离，但不同磁力架的磁力会有所不同，磁性分离的时间可根据实际情况进行调整，以确保磁珠完全吸附于离心管壁，与 Buffer 彻底分离。
5. 操作过程中，用移液器将上清液吸取完全后，应尽快进行后续操作，避免磁珠长时间暴露于空气中，导致磁珠干裂。
6. 磁珠开盖晾干时要避免过分干燥，否则可能会出现磁珠干裂，从而影响 DNA 的回收效率。
7. 转移洗脱液时建议保留 2~3 μl 液体，以免吸取到磁珠影响后续实验。
8. 应尽量使用新鲜的实验材料，以确保样品中的基因组 DNA 不被降解。
9. 使用液氮研磨组织样品时，应随时加入液氮，以确保研磨过程中基因组 DNA 不被降解。如使用组织研磨仪，应注意低温研磨及确保研磨充分。
10. 本产品说明书推荐的最适上样量能满足大部分的样品，但对于核酸含量过高或核酸含量过低的样品，可根据需要减少或增加样品起始量。

## ➤ 操作流程

### 样品前处理

#### 动物组织样品裂解（液氮研磨）：

1. 将适量新鲜或 -80℃ 冻存的组织样品转移至液氮预冷的研钵中，用研磨杵研磨组织样品（研磨过程中需要不断向研钵中补加液氮），直至研磨成粉末状（无明显可见颗粒，研磨不充分会影响 DNA 的收量）。
2. 向 1.5 ml 离心管中加入 200 μl *Mag Buffer LS* 和 20 μl Proteinase K，使用移液枪或涡旋混匀溶液。取 ≤20 mg 的上述已研磨成粉末状的组织样品转移至 1.5 ml 离心管中，立即高速振荡混匀或用移液器反复吹打 3 ~ 5 min，直至无明显组织沉淀。
3. 56℃ 孵育 30 分钟，期间颠倒混匀，使样品充分裂解。

#### 动物组织样品裂解（研磨棒或组织研磨仪）：

1. 向 1.5 ml 离心管中加入 200 μl *Mag Buffer LS* 和 20 μl Proteinase K，使用移液枪或涡旋混匀溶液。取 ≤20 mg 新鲜或 -80℃ 冻存的组织样品转移至 1.5 ml 离心管中，用研磨棒或组织研磨仪充分研磨组织，直至无明显组织沉淀。
2. 研磨充分后，匀浆液如不足 200 μl，用 *Mag Buffer LS* 裂解液补足至 200 μl，振荡混匀。
3. 56℃ 孵育 30 分钟，期间颠倒混匀，使样品充分裂解。

## ➤ 操作流程

### 贴壁培养细胞：

1. 弃尽细胞培养液，向每 10 cm<sup>2</sup> 的贴壁细胞（约  $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$  个细胞）中加入 1 ml PBS 液冲洗细胞，用移液枪的枪头吹落贴壁培养细胞，或使用细胞刮收集细胞，然后转移至 1.5 ml 离心管中。
2. 5,000 rpm 室温离心 5 min，弃上清，加入 200 μl 的 PBS 或灭菌水悬浮细胞。

### 悬浮培养细胞：

1. 将细胞培养液转移至离心管中，5,000 rpm 室温离心 5 min，弃上清，收集  $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$  个细胞。
2. 向离心管中加入 200 μl 的 PBS 或灭菌水悬浮细胞。

## 结合步骤

1. 向上述消化液或细胞悬液中加入 200 μl *Mag Buffer BS*，立即高速涡旋振荡或剧烈颠倒混匀约 30 秒，以确保反应液充分混匀。
  2. 70°C 孵育 10 分钟，期间颠倒混匀，使样品充分裂解，如样品未裂解完全，可适当延长裂解时间。  
【注：样品中无法裂解的碎片需 12000 rpm 室温离心 2 分钟，取上清液进行后续操作，如动物毛发等。】
  3. 加入 20 μl *RNase A Solution*（10 mg/ml），振荡混匀，室温放置 5 ~ 10 分钟，以去除 RNA。
  4. 向上述裂解液中加入 400 μl *Mag Buffer DB*，颠倒混匀，观察溶液的粘稠度，若溶液呈均一流动状，可直接进行后续操作；若溶液呈粘液状，此时需高速涡旋混匀或用移液枪吹打混匀至均一流动状。混合后的溶液称为裂解结合液，获得的裂解结合液可按照“手工法提取”或“全自动核酸提取仪提取”。
- 【注：请确认 *Mag Buffer DB* 中已经加入了指定体积的异丙醇。】

## 手工法提取

1. 向上述裂解结合液中加入 20 μl *MagPure DNA Beads*，立即高速涡旋振荡或剧烈颠倒混匀约 30 秒，以确保磁珠与 DNA 能够充分结合，室温静置 5 分钟，期间每隔 1 分钟上下颠倒混匀 10 次，始终使管内磁珠分布均匀。
2. 将离心管置于磁力架，颠倒混匀，以避免磁珠残留于管盖。静置约 2 分钟至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。
3. 移去磁力架，加入 600 μl *Mag Buffer DWA*，立即涡旋振荡或颠倒混匀约 30 秒以确保洗涤充分，将离心管置于磁力架，颠倒混匀，以避免磁珠残留于管盖，静置约 2 分钟至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。  
【注：请确认 *Mag Buffer DWA* 中已经加入了指定体积的无水乙醇。】
4. 移去磁力架，加入 600 μl 70% 乙醇，立即涡旋振荡或颠倒混匀约 30 秒以确保洗涤充分。将离心管置于磁力架，颠倒混匀，以避免磁珠残留于管盖。静置约 2 分钟至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内及管盖液体，注意不能将磁珠吸出。  
【注：请确认 *RNase free water for 70% ethanol* 中已经加入了指定体积的无水乙醇。】
5. 重复步骤 4 一次。
6. 用桌面离心机短暂离心，将离心管转移至磁力架上，静置约 2 分钟直至磁珠全部吸附到管壁，用移液器吸去管内残留液体。
7. 打开管盖，室温干燥 3 ~ 5 分钟，至磁珠表面无明显液体。  
【注：磁珠开盖晾干时要避免过分干燥，否则可能会出现磁珠干裂，从而影响 DNA 的回收效率】
8. 移去磁力架，加入 50 ~ 100 μl *Mag Elution Buffer*，涡旋 10 ~ 15 次，60°C 孵育 10 分钟，期间每隔 1 分钟，左右摇晃离心管 10 ~ 15 次（切勿颠倒），使管内磁珠始终保持均匀分布的状态。  
【注：*Mag Elution Buffer* 的添加量可根据实际需求的 DNA 浓度调整，若需求较高浓度的 DNA，可适当降低 *Mag Elution Buffer* 的添加量（例：10 ~ 50 μl）。】
9. 用桌面离心机短暂离心，将离心管置于磁力架上，静置约 5 分钟直至磁珠全部吸附到管壁，吸取上清到干净离心管中，此为纯化后的 DNA 溶液。洗脱获得的 DNA 产物可直接用于后续检测或放入 -20°C 中保存。  
【注：转移洗脱液时建议保留 2~3 μl 液体，以免吸取到磁珠影响后续实验。】

## 全自动核酸提取仪提取

1. 将瓶装试剂按照下表分装至 96 深孔板（自备）对应的孔中。

| 位置（列） | 试剂名称                               | 加入量（ $\mu$ l） |
|-------|------------------------------------|---------------|
| 1/7   | 裂解结合液*1                            | 800*1         |
| 2/8   | MagPure DNA Beads*2                | 20            |
| 2/8   | RNase Free Water                   | 100           |
| 3/9   | Mag Buffer DWA*3                   | 600           |
| 4/10  | RNase free water for 70% ethanol*3 | 600           |
| 5/11  | RNase free water for 70% ethanol*3 | 600           |
| 6/12  | Mag Elution Buffer                 | 50~100        |

\*1: 裂解结合液为“结合步骤4”中的混合液，可能有絮状沉淀产生，需将溶液及沉淀全量转移至孔板中，体积约 800  $\mu$ l。

\*2: 取用前应涡旋振荡混匀使其充分悬浮，否则可能会导致吸取磁珠的量不一致从而影响磁珠结合 DNA 的能力。

\*3: 请确认 Mag Buffer DWA 和 RNase free water for 70% ethanol 中已经加入了指定体积的无水乙醇。

2. 参考自动提取仪的操作方法，正确放置 96 深孔板和磁棒套。
3. 启动全自动核酸提取仪的程序，具体程序如下：

## 核酸提取仪提取核酸程序

| 序号 | 列    | 混匀时间 | 磁吸时间  | 等待时间 | 设置温度 | 体系（ $\mu$ l） | 速度 | 工作内容   |
|----|------|------|-------|------|------|--------------|----|--------|
| 1  | 1/7  | 2 分钟 | 0     | 0    | 室温   | 800          | 中  | 混匀裂解   |
| 2  | 2/8  | 1 分钟 | 90 秒  | 0    | 室温   | 120          | 中  | 混匀吸磁   |
| 3  | 1/7  | 2 分钟 | 120 秒 | 0    | 室温   | 800          | 中  | 结合     |
| 4  | 3/9  | 1 分钟 | 90 秒  | 0    | 室温   | 600          | 中  | 洗涤     |
| 5  | 4/10 | 1 分钟 | 90 秒  | 0    | 室温   | 600          | 中  | 洗涤     |
| 6  | 5/11 | 1 分钟 | 90 秒  | 0    | 室温   | 600          | 中  | 洗涤     |
| 7  | 6/12 | 3 分钟 | 120 秒 | 2 分钟 | 60°C | 50~100       | 中  | 洗脱 DNA |
| 8  | 5/11 | 1 分钟 | 0     | 0    | 室温   | 600          | 中  | 弃磁     |

4. 结束程序后，取出 96 深孔板和磁棒套。
5. 转移第 6/12 列中的 DNA 洗脱液至新的 1.5 ml 离心管中，获得的 DNA 可直接用于后续检测或放入 -20°C 中保存。