

YALEPIC[®] 磁珠法多样本 DNA 提取试剂盒

YALEPIC[®] MagEVO Multi Sample DNA Extraction Kit

产品货号: YM26001

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 Multi Sample 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, 从血液、血片、拭子、唾液、组织等多种样本中提取基因组 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	YM26001 (96 T)
①	WSS Buffer	35 ml
②	YBL Buffer	35 ml
③	Wash Buffer GA	80 ml
④	Wash Buffer GB	50 ml
⑤	Magbeads BM	2 × 1 ml
⑥	Proteinase K	3 × 1.3 ml
⑦	YEB Buffer	22 ml

适用范围

适用于血液、血片、拭子、唾液、组织等多种样本。

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 GA** 和 **Wash Buffer GB** 中加入标签指定量的无水乙醇。试用装 (16T) 中 **Wash Buffer GA** 和 **Wash Buffer GB** 已含无水乙醇，使用后请立即盖好瓶盖防止乙醇挥发。
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 BM** 请勿冻存及高速离心，使用前只需涡旋振荡数秒混匀。
5. 参照下表制备**异丙醇 & Magbeads BM 预混液**，每次使用前涡旋振荡 10 s，形成悬浮液。

样品量 (200 μl/样本)	异丙醇 (ml)	Magbeads BM (μl)
1	$0.3 \times (1+0.1 \times 1) = 0.33$	$20 \times (1+0.1 \times 1) = 22$
5	$0.3 \times (5+0.1 \times 5) = 1.65$	$20 \times (5+0.1 \times 5) = 110$
10	$0.3 \times (10+0.1 \times 10) = 3.3$	$20 \times (10+0.1 \times 10) = 220$

实验流程

1. 样本处理

● 新鲜血液

- 1) 向 1.5 ml 离心管 (自备) 中加入 20 μl **Proteinase K**, 300 μl 新鲜血液和 200 μl **YBL Buffer** 后，涡旋振荡 5 s，将离心管放入 56°C、1,300 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 15 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 15 min。期间，每隔 5 min 涡旋振荡 5 s)
- 2) 将离心管取出，瞬时离心后室温放置 5 min。加入 300 μl **异丙醇** (自备) 和 20 μl 充分混匀的 **Magbeads BM**，涡旋振荡 5 s 后混匀后，将离心管置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 5 min。(注：若样品数量较多，可将异丙醇和 Magbeads BM 配制成预混液，向入样品中加入 310 μl 充分混匀的预混液；若无恒温混匀仪，可连续颠倒混匀 10 min)

● 血片

- 1) 向 1.5 ml 离心管 (自备) 中加入 300 μl **WSS Buffer** 和 40 μl **Proteinase K**。(注：如果样品数量较多，可将蛋白酶 K 和 WSS Buffer 按比例混合，向离心管中加入 340 μl 混合物)
- 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 56°C、1,300 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 30 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 30 min。期间，每隔 5 min 涡旋振荡 5 s)

- 3) 将离心管取出，加入 300 μ l **YBL Buffer** 后，将离心管放入 56°C、1,300 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 10 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 10 min。期间，每隔 5 min 涡旋振荡 5 s)
- 4) 将离心管取出，室温放置 5 min 后瞬时离心，再将裂解产物转移至 1.5 ml 离心管（自备）中，加入 300 μ l **异丙醇**（自备）和 10 μ l 充分混匀的 **Magbeads BM**，涡旋振荡 5 s 混匀后，将离心管置于 25°C、1,300 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 5 min。（注：若样品数量较多，可将异丙醇和 Magbeads BM 配制成预混液，向入样品中加入 310 μ l 充分混匀的预混液)

● 干燥保存的口腔拭子

- 1) 用剪刀将口腔拭子棉签剪下，置于 2.0 ml 的离心管（自备）中。
- 2) 向离心管中加入 20 μ l **Proteinase K** 和 300 μ l **WSS Buffer**。后将离心管置于 56°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 30 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 30 min。期间，每隔 5 min 涡旋振荡 10 s)
- 3) 将离心管取下，瞬时离心后加入 300 μ l **YBL Buffer**。再将离心管放于 56°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 10 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 10 min。期间，每隔 5 min 涡旋振荡 10 s)
- 4) 将离心管取出，室温放置 5 min 后瞬时离心，再将裂解产物转移至 1.5 ml 的离心管（自备）中。向离心管中加入 300 μ l **异丙醇**（自备）和 20 μ l 充分混匀的 **Magbeads BM**，涡旋振荡 5 s，将离心管置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 5 min。（注：若样品数量较多，可将异丙醇和 Magbeads BM 配制成预混液，向入样品中加入 310 μ l 充分混匀的预混液)

● 保护液中保存的口腔拭子

- 1) 将口腔拭子残留液体挤净。
- 2) 向一个干净的离心管（自备）中加入 20 μ l **Proteinase K**、300 μ l 保护该拭子的保护液及 200 μ l **YBL Buffer**。后将离心管置于 56°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡裂解 30 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 30 min。期间，每隔 5 min 涡旋振荡 10 s)
- 3) 将离心管取出，室温放置 5 min 后瞬时离心，再将裂解产物转移至 1.5 ml 的离心管（自备）中。向离心管中加入 300 μ l **异丙醇**（自备）和 20 μ l 充分混匀的 **Magbeads BM**，涡旋振荡 5 s，将离心管置于 25°C、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 5 min。（注：若样品数量较多，可将异丙醇和 Magbeads BM 配制成预混液，向入样品中加入 310 μ l 充分混匀的预混液)

● 唾液

- 1) 转移 400 μl 唾液与保护剂的混合溶液至 1.5 ml 离心管 (自备) 中, 16,000 \times g 离心 1 min。
- 2) 吸取 300 μl 上清液至一个新的离心管 (自备) 中, 向离心管中加入 20 μl **Proteinase K**, 然后再加入 200 μl **YBL Buffer**。涡旋振荡混匀后, 将离心管置于 56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅孵育 1 h。
- 3) 将离心管取出, 瞬时离心后室温放置 5 min。加入 300 μl **异丙醇** (自备) 和 20 μl 充分混匀的 **Magbeads BM**, 涡旋振荡 5 s 后混匀后, 将离心管置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 5 min。 (注: 若样品数量较多, 可将异丙醇和 Magbeads BM 配制成预混液, 向入样品中加入 310 μl 充分混匀的预混液)

● 组织

- 1) 称取 20-30 mg 组织 (肝脏, 脾脏, 肾脏等组织核酸含量丰富, 请勿超过 10 mg), 在液氮中或冷冻研磨仪中磨碎, 或使用组织匀浆机打碎, 将打碎的组织转移到 2.0 ml 离心管 (自备) 中。
(注: 样本破碎需彻底, 否则会影响 DNA 的产量; 若采用匀浆的方式, 匀浆时尽量控制温度, 防止因高温导致的 DNA 降解)
- 2) 向上述离心管中加入 300 μl **WSS Buffer** 和 40 μl **Proteinase K** 后将离心管固定于 56 $^{\circ}\text{C}$ 、1,200 rpm 恒温混匀仪上震荡裂解 1 h 或 56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴过夜至固体组织充分裂解。 (注: 消化时间取决于样本类型和匀浆效果, 一般组织样本需要 1 h, 鼠尾、骨骼等可孵育 6-8 h 或过夜消化)
- 3) 16,000 \times g 离心 1 min, 取全部上清液至 1.5 ml 离心管 (自备) 中。
- 4) 可选步骤: 如果少量 RNA 的存在会对下游实验造成影响, 建议向裂解产物中加入 2 μl 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (自备), 震荡混匀, 室温放置 2 min。
- 5) 向裂解上清液中加入 200 μl **YBL Buffer** 涡旋振荡混匀。
- 6) 加入 300 μl **异丙醇** (自备) 和 20 μl 充分混匀的 **Magbeads BM**, 涡旋振荡 5 s 混匀后, 将离心管置于 25 $^{\circ}\text{C}$ 、1,600 rpm 的恒温混匀仪上振荡混匀 10 min。 (注: 若样品数量较多, 可将异丙醇和 Magbeads BM 配制成预混液, 向入样品中加入 310 μl 充分混匀的预混液)

2. 手动提取

- 1) 将步骤 1 中处理好的样本的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)。
- 2) 取下离心管, 向管中加入 750 μl **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 $^{\circ}\text{C}$ 、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)。

- 3) 重复步骤 2) 。
- 4) 取下离心管，向管中加入 750 μl **Wash Buffer GB** (使用前检查是否加入无水乙醇)，漩涡振荡 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)。
- 5) 重复步骤 4) 。
- 6) 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 μl 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。
- 7) 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 μl **YEB Buffer**; 其余样本建议加 30-100 μl **YEB Buffer**)，漩涡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 漩涡振荡 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。)
- 8) 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，待 **Magbeads BM** 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。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断