版本号：06/2024

Fast Magbead Tissue DNA Kit

磁珠法快速动物组织DNA提取试剂盒

Cat. No.：CW2541S

产品简介

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从新鲜或冷冻组织中提取DNA的方法。组织裂解后，DNA结合于硅基包被磁珠表面。漂洗后，高纯度的DNA洗脱于TB或去离子水中。经过纯化的DNA可以直接用于PCR、Real-time PCR、SNP基因分型、STR基因分型、二代测序和药物基因组学研究等。该试剂盒除了能够快速提取动物组织DNA外，还适用于血液、细胞、细菌等样本DNA的提取。

储存条件：所有组分可在干燥、室温（15-30℃）环境稳定保存。

产品内容

Component	CW2541S 96 Preps
Buffer ATL	25 mL
Buffer AL	36 mL
Buffer MB	70 mL
Buffer DW	70 mL
Buffer TB	15 mL
Proteinase K (20 mg/mL)	2×1.25 mL
RNase A (100 mg/mL)	0.6 mL
Magbeads PN	4×1.25 mL

自备仪器、试剂

1. 康为CWE2100、CWE960全自动核酸提取仪
2. 无水乙醇
3. 96 DW Plate（货号：CW2523L）、8 channel Comb（货号：CW2524L）

实验前准备及重要注意事项

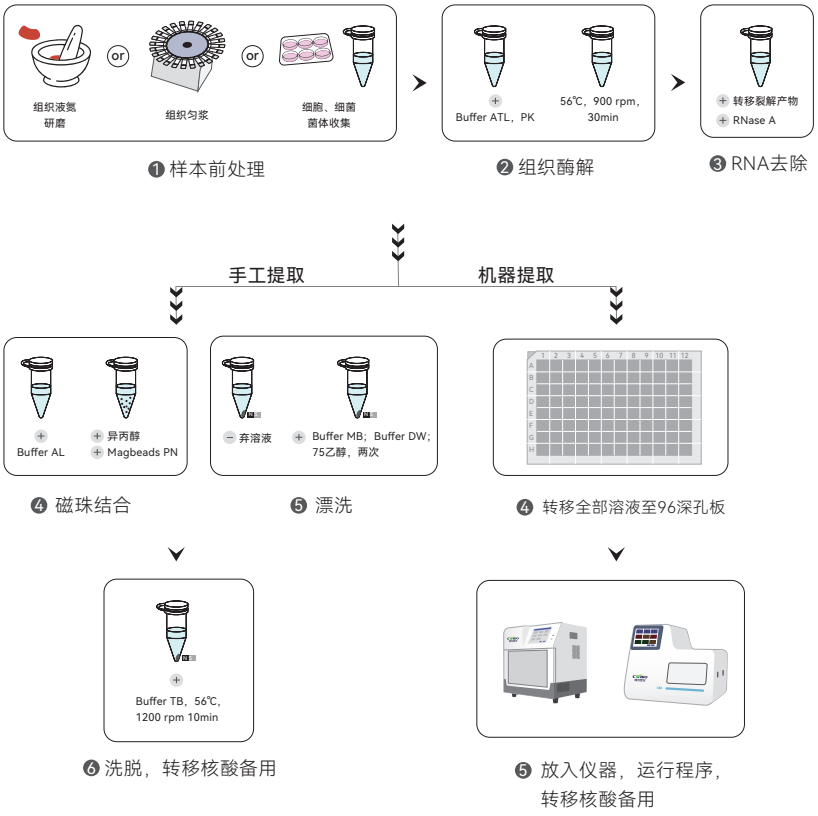
1. 使用前请检查Buffer ATL和 Buffer AL 是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer ATL和Buffer AL 于56℃水浴重新溶解。
2. 实验开始前将水浴锅或恒温混匀仪预热至56℃。
3. Magbeads PN 严禁冰冻和高速离心，否则可能会对Magbeads PN 造成不可逆的损害。Magbeads PN 每次使用时请充分振荡混合均匀。

样本起始选择

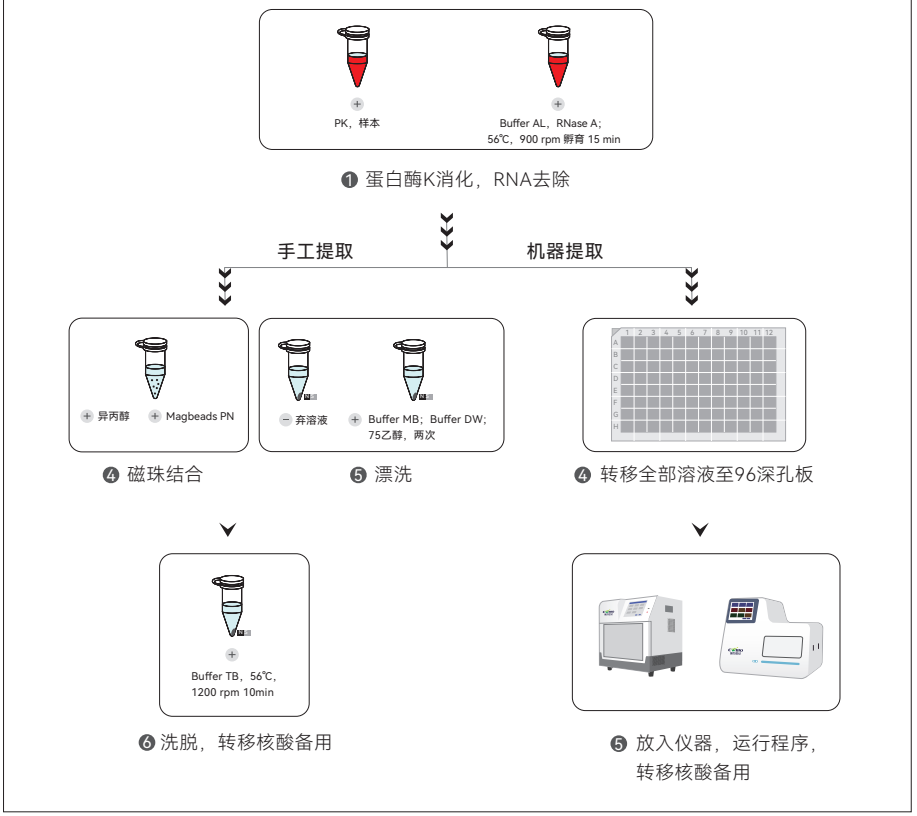
1. **动物组织**：25-30 mg（脾脏用量应少于 10 mg），一个2 mm的立方体（体积8 mm^3）动物组织，大概的重量为10-15 mg 。
2. **血液**：哺乳动物样本初始量200-300 μL左右；鸟类、两栖类动物样本初始量10 μL左右。
3. **培养的哺乳动物细胞**：细胞数量控制在10^6。
4. **细菌**：细菌数量控制在10^9。

操作步骤

组织（细胞、细菌）提取流程示意图



血液提取流程示意图



手工操作步骤（动物组织）

该方案适用于新鲜和冷冻组织样本。纯化的DNA的产量和质量取决于组织类型、来源和存储条件（**细胞、细菌等样本按推荐上样量获得沉淀后，可按动物组织提取操作进行，革兰氏阳性细菌需用溶菌酶进行前处理**）。

1. 称取25-30 mg（脾脏用量应少于 10 mg）动物组织经液氮研磨成细粉或用解剖刀切成小碎块，转入预先装有220 µL Buffer ATL的2 mL离心管中，涡旋震荡混匀，瞬时离心。
2. 加入20 µL Proteinase K，涡旋震荡混匀，瞬时离心。
3. 56℃，900 rpm 孵育30 min直至组织完全溶解，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。
4. 14000 g离心2分钟，吸取上一步200 µL裂解产物到一个新的2 mL离心管中。

5. 加入5 μL RNase A，轻轻涡旋震荡混匀，室温放置10 min。
6. 加入150 μL Buffer AL，轻轻涡旋震荡混匀，瞬时离心。
7. 加入280 μL 异丙醇和40 μL Magbeads PN，轻轻涡旋混匀10s，瞬时离心，1200 rpm室温振荡混匀10 min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。
8. 将离心管转移至磁力架吸附1min（★**直至溶液澄清**），吸弃溶液，期间避免接触磁珠。
9. 向离心管加入650 μL Buffer MB，轻轻涡旋混匀10s，重悬磁珠，1200 rpm 室温振荡混匀3 min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。将离心管转移至磁力架吸附1min（★**直至溶液澄清**），吸弃溶液，期间避免接触磁珠。
10. 向离心管加入650 μL Buffer DW，轻轻涡旋混匀10s，重悬磁珠，1200 rpm 室温振荡混匀3 min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。将离心管转移至磁力架吸附1min（★**直至溶液澄清**），吸弃溶液，期间避免接触磁珠。
11. 向离心管加入650 μL 75%乙醇（自备），轻轻涡旋混匀10s，重悬磁珠，1200 rpm室温振荡混匀3min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。将离心管转移至磁力架吸附1min，（★**直至溶液澄清**），吸弃溶液，期间避免接触磁珠。
12. 重复步骤11一次。
13. 将除尽上清后的离心管，室温干燥约3-5 min，至磁珠表面呈哑黑色，表面无光泽状态。加入80-100 μL Buffer TB，轻轻涡旋混匀10s，重悬磁珠，56℃，1200 rpm孵育10min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。转移至磁力架上吸附1min，吸取上清至新的离心管中备用，纯化的DNA可以储存在-20℃长期备用。

手工操作步骤（哺乳动物血液）

该方案适用于冷冻或者新鲜抗凝全血（EDTA、柠檬酸钠）样本。冷冻血液样本，需在37℃中快速解冻，并适当震荡混匀，使其充分混匀并确保开始操作前样本平衡至室温。纯化的DNA的产量和质量取决于血液的存储条件，新鲜血液样本可能会产生更好的结果。

1. 在 1.5 mL 离心管中，加入 20 μL Proteinase K 和 200 μL 血液，轻轻涡旋震荡混匀。
2. 瞬时离心，加入 300 μL Buffer AL和5 μL RNase A ，轻轻涡旋混匀 10 s，瞬时离心，56℃，900 rpm 孵育 15 min。
3. 孵育结束后，瞬时离心，加入 300 μL 异丙醇和 20 μL Magbeads PN，轻轻涡旋混匀 10 s，室温900 rpm 振荡混匀 5min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。
4. 将离心管转移至磁力架吸附1min（★**直至溶液澄清**），小心吸弃溶液，期间避免接触磁珠。
5. 向离心管加入650 μL Buffer MB，轻轻涡旋混匀10 s，重悬磁珠，1200 rpm室温振荡混匀 3 min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。将离心管转移至磁力架吸附1min（★**直至溶液澄清**），吸弃溶液，期间避免接触磁珠。

6. 向离心管加入650 μL Buffer DW，轻轻涡旋混匀10 s，重悬磁珠，1200 rpm室温振荡混匀3 min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。将离心管转移至磁力架吸附1min（★**直至溶液澄清**），吸弃溶液，期间避免接触磁珠。
7. 向离心管加入650 μL 75%乙醇（自备），轻轻涡旋混匀10 s，重悬磁珠，1200 rpm 室温振荡混匀3min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。将离心管转移至磁力架吸附1min(★**直至溶液澄清**），吸弃溶液，期间避免接触磁珠。
8. 重复步骤7一次。
9. 将除尽上清后的离心管，室温干燥约 3-5 min，至磁珠表面呈哑黑色，表面无光泽状态。加入 80-100 μL Buffer TB，轻轻涡旋混匀 10 s，重悬磁珠，56℃，1200 rpm孵育10 min，结束后瞬时离心，保证管盖上无液体。转移至磁力架上吸附1min，吸取上清至新的离心管中备用，纯化的DNA可以储存在-20℃长期备用。

与CW2100或CWE960匹配机提操作（动物组织）

（细胞、细菌等样本按推荐上样量获得沉淀后，可按动物组织提取操作进行，革兰氏阳性细菌需用溶菌酶进行前处理）

1. 称取25-30mg（脾脏用量应少于10 mg）动物组织经液氮研磨成细粉或用解剖刀切成小碎块，转入预先装有220 μL Buffer ATL的2 mL离心管中，涡旋充分混合，瞬时离心。
2. 加入20 μL Proteinase K，涡旋振荡混匀，瞬时离心。
3. 56℃，900 rpm孵育30 min，直至组织完全溶解，短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。
4. 14000 g离心2分钟，吸取上一步200 μL裂解产物到一个新的2 mL离心管中。
5. 加入5 μL RNase A（100 mg/mL），室温放置5-10min。转移全部溶液至96深孔板中，其余试剂按下表对应加入：

位置	试剂及用量	位置	试剂及用量
1&7 Colume	**裂解上清液：All** Buffer AL: 150 μL 异丙醇: 280 μL Magbeads PN: 40 μL	第1板	**裂解上清液：All** Buffer AL: 150 μL 异丙醇: 280 μL Magbeads PN: 40 μL
2&8 Colume	Buffer MB: 650 μL	第2板	Buffer MB: 650 μL
3&9 Colume	Buffer DW: 650 μL	第3板	Buffer DW: 650 μL
4&10 Colume	75%乙醇: 650 μL	第4板	75%乙醇: 650 μL
5&11 Colume	75%乙醇: 650 μL	第5板	75%乙醇: 650 μL
6&12 Colume	Buffer TB: 100 μL	第6板	Buffer TB: 100 μL

CW2100 32通道核酸提取仪试剂分布　　CW960 96通道核酸提取仪试剂分布

6. 将加入试剂的96孔深孔板按照顺序放入仪器中，之后插入磁棒套，运行程序。
7. 程序结束后，取出96孔板，将核酸转移至1.5 mL离心管中，把产物保存于-20℃。

与CW2100或CWE960匹配机提操作（哺乳动物血液）

1. 在 1.5 mL 离心管中，加入 20 μL Proteinase K 和 200 μL 血液，轻轻涡旋震荡混匀。
2. 瞬时离心，加入 300 μL Buffer AL和5 μL RNase A ，轻轻涡旋混匀 10s，瞬时离心，56℃，900 rpm 孵育 15 min。
3. 孵育结束后，转移全部溶液至96DW深孔板中，其余试剂按下表对应加入。

位置	试剂及用量	板位	试剂及用量
1&7 Colume	**全部裂解物：All** 异丙醇: 300 μL Magbeads PN: 20 μL	第1板	**全部裂解物：All** 异丙醇: 300 μL Magbeads PN: 20 μL
2&8 Colume	Buffer MB: 650 μL	第2板	Buffer MB: 650 μL
3&9 Colume	Buffer DW: 650 μL	第3板	Buffer DW: 650 μL
4&10 Colume	75%乙醇: 650 μL	第4板	75%乙醇: 650 μL
5&11 Colume	75%乙醇: 650 μL	第5板	75%乙醇: 650 μL
6&12 Colume	Buffer TB: 100 μL	第6板	Buffer TB: 100 μL

CW2100 32通道核酸提取仪试剂分布　　CW960 96通道核酸提取仪试剂分布

4. 将加入试剂的96孔深孔板按照顺序放入仪器中，之后插入磁棒套，运行程序。
5. 程序结束后，取出96孔板，将核酸转移至1.5 mL离心管中，把产物保存于-20℃。

结果分析

DNA浓度应通过分光光度计测量 260 nm（A260）处的吸光度来确定。DNA在260 nm处有显著吸收峰，吸光度读数应在0.1至1.0，如果不在此范围，则需要稀释或浓缩样品。在260 nm处，1个单位的吸光度对应于每毫升 50 μg 的DNA（A260=1→50 μg/mL）。洗脱液中磁珠的残留可能会影响A260读数，但不会影响下游DNA的性能。

DNA样本浓度=50 μg/mL×（A260-A320）×稀释倍数

DNA总量=浓度×样本体积（mL）

DNA纯度通过计算260 nm与280 nm处的校正吸光度（减去320 nm处获得的吸光度读数，以纠正磁性颗粒的存在）之比来确定，即(A260−A320)/(A280−A320)。纯DNA的A260/A280比值为1.7-1.9。

相关产品

Cat. No.	产品名称
CW3048	CWseq Universal DirectFast DNA Library Prep Kit
CW3047	CWseq Super HiFi Amplification Mix for NGS
CW3347	SuperFastStar Probe Mixture
CW3360	SuperStar Universal SYBR Master Mix-SYBR
CW3364	Lyophilized SuperFast Universal SYBR Master Mix

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其他用途