

## BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 磁珠法)

产品编号	产品名称	包装
D0088S	BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 磁珠法)	50次

### 产品简介:

- 碧云天生产的BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 磁珠法), 即BeyoMag™ Universal Genomic DNA Purification Mini Kit with Magnetic Beads)是一种基于磁珠法的高效便捷的基因组DNA抽提试剂盒。本产品可以用于抽提动物组织、鼠尾、培养细胞、细菌、酵母、动物血液、昆虫以及固定组织的包括基因组DNA在内的总DNA, 也可以用于长度大于100bp DNA片段的抽提。本试剂盒通过说明书中提供的不同操作方法, 可以抽提除植物样品外的几乎所有样品中的总DNA。
- 本试剂盒的原理和操作流程如图1所示。样品首先被蛋白酶K消化, 释放出来的基因组DNA在特定条件下与磁珠特异性结合。在外界磁场(如磁分离架)的作用下, 磁珠与相应溶液可以快速高效地分离。随后通过两次洗涤去除各种杂质, 最后通过洗脱液将DNA从磁珠上洗脱下来[1-3]。整个过程无需酚氯仿抽提, 无需酒精沉淀, 样品裂解后仅需约15分钟即可完成。

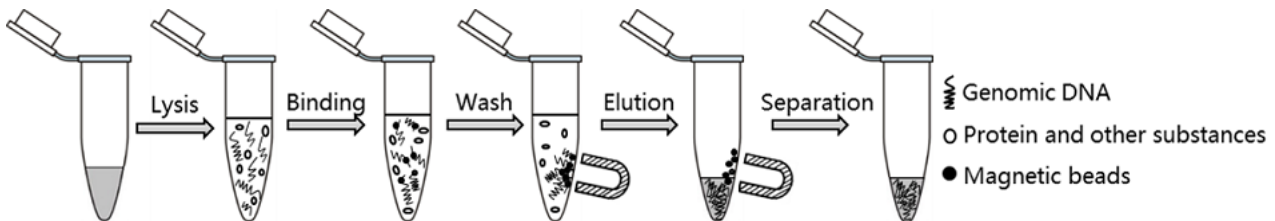


图1. BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 磁珠法) (D0088)抽提DNA原理示意图。

- 通过本试剂盒纯化得到的基因组DNA的长度最长可达50kb左右, 平均为30kb左右, 最短为100bp的DNA也可以被纯化。如需获得更长的基因组DNA, 对于哺乳动物样品, 包括组织或细胞等, 可以使用碧云天哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒(D0061)。
- 通过本试剂盒获得的总DNA, OD260/OD280的范围通常在1.6至1.9之间。
- 本试剂盒按照推荐的操作步骤, 每次可抽提至少数百个细胞, 多至25mg组织、0.5-1cm鼠尾、500万个培养细胞、20亿个细菌或5000万个酵母。样品用量过多, 反而会影响抽提效果。如果待抽提样品的DNA含量小于5ng, 建议加入适当量的carrier DNA, 例如poly-dT或其它对后续实验没有干扰的DNA, 也可以加入适当量的carrier RNA, 例如Yeast RNA (R0038/R0040)等, 以改善抽提效果。本试剂盒与基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 离心柱式) (D0063)的抽提效果对比参见图2。如图2所示, 本试剂盒用于抽提细胞和组织样品的DNA时, 抽提得到的DNA的量与碧云天的离心柱式试剂盒相当。

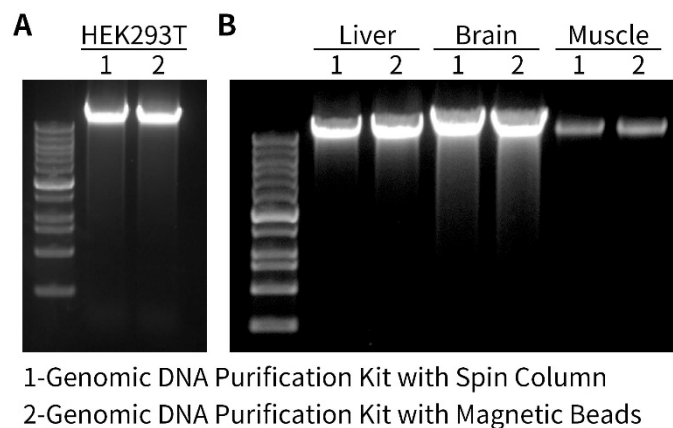


图2. 碧云天BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 磁珠法) (D0088)和基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 离心柱式) (D0063)用于从HEK293T细胞和小鼠组织抽提基因组DNA的效果图。图A使用两款试剂盒分别抽提100万HEK293T细胞的总DNA, 图B使用两款试剂盒分别抽提小鼠组织(肝脏、脑和肌肉)的总DNA, 洗脱液用量均为50μl, 取8μl洗脱后的样品混合1.6μl BeyoRed DNA上样缓冲液(6X) (D0072), 使用0.8%琼脂糖凝胶进行电泳检测。实际结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异, 图中效果仅供参考。

- 按照本试剂盒的标准操作步骤抽提得到的总DNA会含有少量的RNA, 但如果按照可选步骤加入适量的DNase free的RNase A (ST576/ST577), 就可以获得不含RNA的高纯度总DNA。含有RNA的总DNA可以用于PCR, 但对于某些其它的后续反应可

能会产生一些影响。

- 本试剂盒中的BeyoMag™磁珠，每20μl磁珠悬液对于DNA的最大结合容量约为30μg。通常每200万HeLa细胞或500万淋巴细胞可以抽提得到15-25μg总DNA，每25mg肝、脑、肾组织可以抽提得到10-30μg总DNA，每25mg心、肺组织可以抽提得到5-10μg总DNA，每10mg脾组织可以抽提得到5-30μg总DNA，每1.2cm小鼠尾尖或0.3cm大鼠尾尖可以获得10-25μg总DNA。
- 本试剂盒小包装可以抽提50个样品的总DNA。

#### 包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D0088S-1	BeyoMag™磁珠	1.1ml
D0088S-2	样品裂解液A	10ml
D0088S-3	样品裂解液B	11ml
D0088S-4	洗涤液I (首次使用前加入7ml无水乙醇)	21ml (+7ml)
D0088S-5	洗涤液II (首次使用前加入24ml无水乙醇)	16ml (+24ml)
D0088S-6	洗脱液	22ml
D0088S-7	蛋白酶K	1.1ml
—	说明书	1份

#### 保存条件：

蛋白酶K -20℃保存，其余均室温保存。一年有效。其中BeyoMag™磁珠长期不使用时，可以4℃保存，4℃可以保存更长时间。蛋白酶K室温(15-25℃)存放一周，活力无明显下降。

#### 注意事项：

- 需自备磁分离装置，推荐使用碧云天的1.5/2ml磁分离架(FMS004/FMS008/FMS012/FMS016/FMS024)。
- 抽提细菌、酵母样品时还需要一些特定的试剂，详情请参考使用说明中的相关描述。
- 如需制备不含RNA的高纯度总DNA，需自备DNase free的RNase A，推荐订购碧云天的RNase A (ST576/ST577)。
- 温度较低时样品裂解液A或样品裂解液B中可能会有沉淀产生，属正常现象。使用前必须检查一遍。如有沉淀，55℃水浴孵育使沉淀溶解，混匀后使用。
- **首次使用前洗涤液I需添加7ml无水乙醇，洗涤液II需添加24ml无水乙醇，混匀，并在瓶上做好标记。**
- 磁珠在静置后会发生沉降，使用前一定要适当涡旋震荡或颠倒数次至充分混匀。
- 磁分离前应适度震荡离心管使磁珠充分分散后再靠近磁场。如果出现磁珠挂壁现象，可以在磁珠聚集后晃动管内液体，使挂壁的磁珠流下。
- 请使用推荐的样品量。如果样品量过大，可能造成磁珠聚集，会影响洗涤进而影响抽提获得的DNA纯度。发生磁珠聚集时，洗涤时需尽量分散磁珠，这样可有效改善抽提效果。如果发生磁珠聚集现象，建议在后续实验中适当减少样品用量。
- 本试剂盒的某些步骤需使用55℃和70℃水浴，请提前作好准备。
- 除特别说明外，每次Vortex应控制在5-10秒左右。
- 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。
- 参考如下使用说明，从某些样品中抽提总DNA不需要使用样品裂解液A。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

#### 使用说明：

##### 1. 从动物组织中提取总DNA。

- 取不超过25mg的组织(脾不超过10mg)，尽量在10mg左右，剪切成尽可能小的碎片，加入180μl样品裂解液A。或置于液氮中研磨成粉末，再加入180μl裂解液A。也可将组织置于1.5ml离心管中，加入180μl冰浴预冷的裂解液A，用微型电动匀浆器匀浆(如E6600)，或者用普通玻璃匀浆器进行匀浆。**  
请勿使用过多的样品，过多的样品会导致抽提效果下降。较小的组织碎片会使裂解速度加快，裂解效果提高。新鲜或冻存的组织均可，但固定过的组织请参考后续的其他步骤进行。
- 加入20μl蛋白酶K，Vortex混匀，55℃水浴孵育至完全裂解。**  
在孵育期间可以偶尔取出样品Vortex以加快裂解速度。裂解的时间因组织不同而有所不同，通常可在1-3小时内完成。为方便起见，可以直接裂解过夜，裂解过夜对抽提效果无任何负面影响。组织完全裂解后可以呈粘稠状，但不应该呈凝胶状。如果消化过夜仍呈凝胶状，说明样品用量过多，作为补救措施，可以把整个反应体系放大一倍。
- 清除RNA (可选做)。如果希望获得不含RNA的高纯度总DNA，加入4μl 100mg/ml RNase A，Vortex混匀。室温(15-25℃)放置2分钟。**  
转录活性水平很高的组织例如肝和肾组织，RNA含量很高，在不做清除RNA的操作步骤(步骤1.c)的情况下，会导致最后获得的总DNA含有小部分RNA。如果残余的少量RNA对后续实验没有干扰，可以不进行本步实验操作，直接进入步骤1.d。
- 最高速剧烈Vortex 15秒。加入200μl样品裂解液B，Vortex混匀。70℃孵育10分钟。**  
加入样品裂解液B后需立即Vortex混匀。加入样品裂解液B后可能会产生白色沉淀，但大多数情况在70℃孵育后会溶

解。即使70°C孵育后仍有白色沉淀也不会干扰后续实验。有些组织例如肺、脾，在加入样品裂解液B后可能会形成凝胶状物，此时需剧烈晃动或Vortex样品，以尽量破坏凝胶状物。

e. **加入200µl无水乙醇，Vortex混匀。**

加入乙醇后必须充分混匀，否则会严重影响抽提效果。加入乙醇后可能产生白色沉淀，属正常现象，后续步骤中必须把白色沉淀和溶液全部用于和磁珠的结合，沉淀不会影响抽提效果。

f. **向步骤e中的混合物加入20µl BeyoMag™磁珠悬液(使用前务必混匀)，轻柔混匀后，室温放置3-5分钟。将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸除残液。**

磁珠在使用前一定要涡旋或震荡混匀。如有必要，可适当增加磁珠用量，延长结合时间以提高得率。

g. **加入500µl洗涤液I，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。**

h. **加入600µl洗涤液II，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。**

i. **将离心管室温放置5-10分钟，或置于37°C鼓风烘箱5分钟，确保残留的乙醇等微量液体完全挥发。**

j. **加入50-100µl洗脱液，轻柔震荡使磁珠悬于溶液中，室温孵育3-5分钟，其间甩动离心管1-2次。将离心管置于磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸取溶液至新离心管中，置于-20°C保存。所得溶液即为纯化的总DNA。**

如需获得更高浓度的样品，可把洗脱液的体积减小至20µl，但洗脱下来的DNA量会相对减少。室温较低时，洗脱液在37°C预热片刻对得率有所帮助。此外，洗脱后的溶液再次加回到原磁珠再洗脱一次，可提高得率约10-30%；或者在第一次洗脱后使用新的洗脱液再洗脱一次，会获得约为第一次洗脱量15-40%的DNA。

**2. 从鼠尾中抽提总DNA。**

a. **取0.4-0.6cm的大鼠尾尖一段，或小鼠尾尖最多两段，加入180µl样品裂解液A。**

小鼠尾尖最长不能超过1.2cm，大鼠尾尖不能超过0.6cm。如果使用的是成年大鼠或小鼠，建议仅使用0.4-0.6cm长的尾尖。如果抽提鼠尾的DNA用于基因型鉴定(Genotyping)，使用0.2-0.3cm长的尾尖已经足够。

b. **加入20µl蛋白酶K，Vortex混匀，55°C水浴孵育至完全裂解。**

在孵育期间可以偶尔取出样品Vortex以加快裂解速度。并确保鼠尾浸没在裂解液内。裂解完全通常需6-8小时。为方便起见，可以直接裂解过夜，裂解过夜对抽提效果无任何负面影响。组织完全裂解后可以呈粘稠状，但不应该呈凝胶状。如果消化过夜仍呈凝胶状，说明样品用量过多，作为补救措施，可以把整个反应体系放大一倍。

c. **清除RNA (可选做)。如果希望获得不含RNA的高纯度总DNA，则加入4µl 100mg/ml RNase A，Vortex混匀。室温(15-25°C)放置2分钟。**

鼠尾中RNA含量很低，但在不做清除RNA的操作步骤(步骤2.c)的情况下，会导致最后获得的总DNA含有少量的RNA。如果残余的少量RNA对后续实验没有干扰，可以不进行本步实验操作，直接进入步骤2.d。

d. **按照等体积混合适当体积的样品裂解液B和无水乙醇，Vortex混匀。**

每一个样品，需混合200µl样品裂解液B和200µl无水乙醇。如果有10个样品，则需混合2ml样品裂解液B和2ml无水乙醇，以此类推。配制好的样品裂解液B和无水乙醇的等体积混合液，室温放置，3个月内有效。必须Vortex充分混匀，否则会严重影响抽提效果。

e. **最高速剧烈Vortex 15秒。加入400µl步骤d配制的样品裂解液B和无水乙醇等体积混合液，剧烈Vortex混匀。**

加入样品裂解液B和无水乙醇的等体积混合液后可能会产生白色沉淀，属正常现象，后续步骤中必须把白色沉淀和溶液全部用于和磁珠的结合，沉淀不会影响抽提效果。

f. **转步骤1.f，后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.f起的步骤。**

**3. 从培养的动物细胞中抽提总DNA。**

a. **收集最多不超过500万的细胞，离心沉淀后重悬于200µl PBS (C0221A)中。**

PBS需自备。如果使用冻存的细胞沉淀，先把细胞沉淀解冻，并轻轻弹散，然后再加入PBS。对于基因组DNA含量较高的细胞，例如HeLa细胞，应使用较少的细胞，例如100-200万HeLa细胞。

b. **清除RNA (可选做)。如果希望获得不含RNA的高纯度总DNA，加入4µl 100mg/ml RNase A，Vortex混匀。室温(15-25°C)放置2分钟。**

在不做清除RNA的操作步骤(步骤3.b)的情况下，会导致最后获得的总DNA含有小部分RNA。如果残余的少量RNA对后续实验没有干扰，可以不进行本步实验操作，直接进入步骤3.c。

c. **加入20µl蛋白酶K，Vortex混匀。**

d. **加入200µl样品裂解液B，Vortex混匀。70°C孵育10分钟。**

加入样品裂解液B后必须立即Vortex混匀。不可把蛋白酶K直接和样品裂解液B混合。

e. **加入200µl无水乙醇，Vortex混匀。**

加入乙醇后必须充分混匀，否则会严重影响抽提效果。加入乙醇后可能会产生白色沉淀，属正常现象，后续步骤中必须把白色沉淀和溶液全部用于和磁珠的结合，沉淀不会影响抽提效果。

f. **转步骤1.f，后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.f起的步骤。**

**4. 从动物血液中抽提总DNA。**

本操作方法也适用于血沉棕黄层(Buffy coat)和骨髓(Bone marrow)的总DNA抽提。

a. **取50-100µl红细胞无细胞核的血，或5-10µl红细胞有细胞核的血。**

人、猴、牛、兔、大鼠、小鼠等的红细胞无细胞核，鸟、鱼、蛙等的红细胞有细胞核。红细胞有细胞核会导致相同体

积的血液内DNA的含量非常高。

- b. 加入20 $\mu$ l蛋白酶K。
- c. 加入PBS至总体积为220 $\mu$ l, Vortex混匀。
- d. 加入200 $\mu$ l样品裂解液B, Vortex混匀。70 $^{\circ}$ C孵育10分钟。
- e. 转步骤3.e, 后续步骤同“从培养的动物细胞中抽提总DNA”3.e起的步骤。

#### 5. 从石蜡包埋的组织样品中抽提总DNA。

由于包埋的组织通常已经被固定, 通常仅能获得长度小于650bp的DNA。乙醇或甲醛固定的石蜡包埋组织样品相对比较适合DNA的抽提, 而有交联作用的固定试剂(例如铁酸)固定的组织则不适合用于抽提DNA。需自备二甲苯。

- a. 取一块小于25mg的包埋块, 加入1.2ml二甲苯, 剧烈Vortex, 以充分脱腊。
- b. 台式离心机最高速(12,000-14,000rpm)室温离心5分钟, 弃上清。  
注: 去除上清的时候要非常小心, 不要把沉淀丢失了。
- c. 加入1.2ml无水乙醇, 轻轻Vortex混匀, 以去除残留的二甲苯。
- d. 台式离心机最高速(12,000-14,000rpm)室温离心5分钟, 弃上清。  
注: 去除上清的时候要非常小心, 不要把沉淀丢失了。
- e. 重复步骤c和d一次, 即再用乙醇洗涤样品一次。
- f. 弃上清后再最高速离心1分钟, 用20 $\mu$ l枪小心吸除残留的液体。
- g. 室温放置数分钟至乙醇全部挥发。
- h. 加入180 $\mu$ l样品裂解液A。
- i. 转步骤1.b, 后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.b起的步骤。

#### 6. 从甲醛固定的组织中抽提总DNA。

由于组织已经被固定, 通常仅能获得长度小于650bp的DNA。甲醛或乙醇固定的组织样品相对比较适合DNA的抽提, 而有交联作用的固定试剂(例如铁酸)固定的组织则不适合用于抽提DNA。乙醇固定的组织可以参考甲醛固定的组织的抽提方法进行总DNA的抽提。

- a. 取不超过25mg的组织, 用PBS洗涤两次, 以充分去除固定液。
- b. 去除PBS, 转步骤1.a, 后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.a起的步骤。

#### 7. 从革兰氏阴性菌中抽提总DNA。

- a. 离心收集最多不超过20亿个细菌, 弃上清。
- b. 加入180 $\mu$ l样品裂解液A, 充分重悬细菌。
- c. 转步骤1.b, 后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.b起的步骤。

#### 8. 从革兰氏阳性菌中抽提总DNA。

需自备溶菌酶, 并配制溶菌酶溶液: 20mM Tris, pH8.0, 2mM EDTA, 1.2% Triton X-100, 20mg/ml溶菌酶。溶菌酶在临使用前加入。

- a. 离心收集最多不超过20亿个细菌, 弃上清。
- b. 用180 $\mu$ l溶菌酶溶液充分重悬细菌。
- c. 37 $^{\circ}$ C孵育30分钟以裂解细菌。
- d. 加入20 $\mu$ l蛋白酶K, Vortex混匀。
- e. 加入200 $\mu$ l样品裂解液B, Vortex混匀。  
注: 不可把蛋白酶K直接加入到样品裂解液B中。
- f. 70 $^{\circ}$ C孵育30分钟。
- g. 转步骤1.e, 后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.e起的步骤。

#### 9. 从酵母中抽提总DNA。

需自备用于裂解酵母的酶Lyticase, 并配制酵母裂解液: 1M 山梨糖醇(Sorbitol), 100mM EDTA, 14mM 2-巯基乙醇。

- a. 离心收集最多不超过50万个酵母, 弃上清。
- b. 用600 $\mu$ l上述酵母裂解液重悬, 加入200U Lyticase, 30 $^{\circ}$ C孵育30分钟。  
注: 裂解的时间会随酵母的种类不同而有所不同, 详细情况请参考Lyticase的说明书。
- c. 300 $\times$ g离心10分钟收集沉淀, 弃上清。
- d. 沉淀用180 $\mu$ l样品裂解液A重悬。
- e. 转步骤1.b, 后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.b起的步骤。

#### 10. 从昆虫中抽提总DNA。

- a. 用液氮冷冻后研碎处理:
  - a) 取最多不超过50mg昆虫(例如果蝇), 液氮冷冻后研碎, 转移至1.5ml离心管中。
  - b) 加入180 $\mu$ l样品裂解液A。
  - c) 转步骤1.b, 后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.b起的步骤。
- b. 用匀浆器匀浆处理:
  - a) 取最多不超过50mg昆虫(例如果蝇)。
  - b) 加入180 $\mu$ l PBS, 用电动匀浆器或玻璃匀浆器匀浆。
  - c) 转步骤3.b, 后续步骤同“从培养的动物细胞中抽提总DNA”3.b起的步骤。

## 11. 从其它样品中抽提总DNA。

对于某些样品需使用特定的裂解液裂解，可以参考如下方法进行总DNA的抽提。

- 样品用200 $\mu$ l特定的裂解液裂解。裂解需确保呈溶液状态，如果有不溶物需通过离心沉淀去除。
- 加入20 $\mu$ l蛋白酶K。
- 加入200 $\mu$ l样品裂解液B，立即Vortex混匀。70 $^{\circ}$ C孵育10分钟。

**注：**检查整个溶液的pH值，确保pH值小于7.0，否则DNA结合到磁珠的效率会很低。

- 转步骤1.e，后续步骤同“从动物组织中提取总DNA”1.e起的步骤。

### 参考文献：

- Vogelstein B, Gillespie D. Proc Natl Acad Sci U S A. 1979. 76(2):615-9.
- Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PM, et al. J Clin Microbiol. 1990. 28(3):495-503.
- Archer MJ, Lin B, Wang Z, Stenger DA. Anal Biochem. 2006. 355(2):285-97.

### 相关产品：

产品编号	产品名称	包装
D0061	哺乳动物基因组DNA抽提试剂盒	50次
D0065S	动物基因组DNA快速抽提试剂盒(PCR分析用)	100次
D0065M	动物基因组DNA快速抽提试剂盒(PCR分析用)	500次
D0063	基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 离心柱式)	50次
D0088S	BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 磁珠法)	50次
FMS004	BeyoMag™磁分离架(4孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS008	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS012	BeyoMag™磁分离架(12孔)	1个/袋
FMS016	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS024	BeyoMag™磁分离架(24孔)	1个/袋

Version 2022.07.22