

Extiquick™ 血液/细胞/组织 DNA 提取试剂盒 操作说明书

(Cat#EX001, Version1.5)

欣基（杭州）生物科技有限公司
WisGen BioSciences Co., Ltd

For Research Use Only.

Not For Use in Diagnostic Procedures.

仅供科研使用

产品组成

主货号：EX001 规格：100 preps / 250 preps

组 分	100 preps (EX001-100)	250 preps (EX001-250)	保存条件
FLA Buffer	50 mL	125 mL	室温
Proteinase K	50 mg	120 mg	2 ~ 8 °C
Protease Dissolve Buffer	2.5 mL	6 mL	2 ~ 8 °C
GD Lysis Buffer	45 mL	112.5 mL	室温
Wash Buffer G I	60 mL	150 mL	室温
Wash Buffer G II	30 mL	75 mL	室温
Elution Buffer	5 mL	12.5 mL	室温
Silic Beads B	2 mL	5 mL	2 ~ 8 °C

保存与运输条件

请严格按照表格所示的温度进行保存，2 ~ 8 °C运输。

- ！ 注意：**1) Proteinase K 干粉状态可在 2 ~ 8 °C保存两年，溶解后的 Proteinase K 需置于 -30 ~ -15 °C保存；
- 2) Silic Beads B 严禁冷冻或离心。

产品概述

Extiquick™ 血液/细胞/组织 DNA 提取试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，高效吸附样本中的 DNA，并结合配套清洗试剂，最大程度地去除蛋白质及其他杂质，达到快速分离、纯化核酸的目的。本产品适用于血液、细胞及组织的 DNA 分离及纯化，操作过程简单快速，分离出的 DNA 纯度高、完整性好且质量稳定，可直接用于定量 PCR 及二代测序文库构建等下游分子实验。

适用范围

本产品适用于 $\geq 200\ \mu\text{L}$ 抗凝全血、 $< 5 \times 10^6$ 个细胞、 $> 25\ \text{mg}$ 动物组织样本 DNA 的分离与纯化。

注意事项

! 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项：

1. 请根据试剂标签的指示量加入 Protease Dissolve Buffer，轻轻颠倒混匀数次，置于室温下 10 min，使 Proteinase K 充分溶解，溶液终浓度为 20 mg/mL。建议 Proteinase K 溶液分装保存于 $-30 \sim -15\ ^\circ\text{C}$ ，避免反复冻融影响活性。
2. GD Lysis Buffer 在保存环境温度较低时会有晶体析出，使用前需要加热溶解（建议温度为 $56\ ^\circ\text{C}$ ），待晶体溶解混匀后方可使用。
3. Wash Buffer G I 和 Wash Buffer G II 使用前，请按瓶身标签所示加入对应量的无水乙醇后方可使用。
4. Silic Beads B 在使用前请务必置于室温下平衡 30 min，并充分振荡混匀，使磁珠均匀分散后方可使用。此组分严禁冷冻或者离心，此操作将导致试剂失效而无法使用。
5. 不可过度干燥磁珠，以免造成 DNA 洗脱效率下降。
6. 裂解完成后，当消化液中存在絮状物或果冻状胶体时，可用吸头挑除，随后加入磁珠，避免粘连磁珠，影响 DNA 得率。
7. 使用含肝素抗凝剂的采血管收集的血样，不可用于 PCR 及二代测序相关实验。

实验前准备

1. 自备试剂

生产商#货号	产品/试剂名称	备注
*	无水乙醇	/
*	异丙醇	/
*	1× PBS 缓冲液	/

⬆ * 常规实验室供应商品品牌即可

2. 自备材料

实验仪器及耗材

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
*	台式离心机	/
*	微型离心机	/
*	涡旋振荡混匀仪	/
*	恒温振荡金属浴	/
*	移液器	/
AllSheng# AS-17030-00	全自动核酸提取仪 Auto-Pure 32A	自动法匹配的仪器； 可选择其它同类产品
Thermo Fisher# Q33216	Qubit® 3.0 Fluorometer	可选择基于荧光染料法的 DNA 定量系统的其它同类产品
Agilent #G2939AA	Agilent 2100 Electrophoresis Bioanalyzer® system	或其它同类产品
*	1.5 mL 无色灭菌离心管	建议选择无核酸酶的产品
*	1000 µL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	200 µL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品
*	0.5 - 10 µL 吸头	建议选择无核酸酶 带滤芯的产品

生产商#货号	仪器/耗材名称	描述
WisGen#QC001-R	xQuant™管 (适配 Qubit 平台)	可选择适配 Qubit® 荧光计的其它同类产品
WisGen#QC002-R	xQuant 检测联管 (适配 Qubit 平台)	可选择适配 Qubit® Flex 荧光计的其它同类产品
WisGen#MR-B-16	xMag™磁力架 (1.5 mL*16 孔)	手动法匹配的耗材； 可选择其它同类产品
AllSheng# AS-17031-01	96 孔 2 mL 深孔板	可选择适配全自动核酸提取仪 Auto-Pure 32A 的其它同类 产品
AllSheng# AS-17031-02	2 mL 磁套棒	可选择适配全自动核酸提取仪 Auto-Pure 32A 的其它同类 产品

⬆ * 常规实验室供应商品品牌即可

实验流程 1：手动法操作步骤

1. 样本处理

1.1 血液样本

1.1.1 将采血管轻柔地上下颠倒混匀十次，取 200 μ L 血液样本至 1.5 mL 离心管中。

1.1.2 加入 2.5 倍血液样本体积的 FLA Buffer，上下颠倒混匀 10 sec，10000 rpm

离心 1 min，去除上清，保留白细胞沉淀。

！ 注意：如果红细胞裂解不完全，可重复步骤 1.1.2 一次。

1.1.3 执行步骤 2 的实验流程。

1.2 细胞样本

1.2.1 将培养的细胞转移至 1.5 mL 离心管中，1000 rpm 离心 3 min，去除培养基，保留细胞沉淀。

1.2.2 加入 500 μ L 1 \times PBS 缓冲液，温和振荡使细胞团分散。

1.2.3 1000 rpm 离心 3 min，去除 1 \times PBS 缓冲液，保留细胞沉淀。

1.2.4 重复步骤 1.2.2 和步骤 1.2.3 共计两次。

1.2.5 执行步骤 2 的实验流程。

1.3 组织样本

1.3.1 取 > 25 mg 的新鲜或冻存组织转移至 1.5 mL 离心管中。

！ 注意：肝脏及脾脏等细胞含量较多的组织，取 > 10 mg 即可。

1.3.2 加入 500 μ L 1 \times PBS 缓冲液，振荡 30 sec，1000 rpm 离心 3 min，去除上清。

1.3.3 重复步骤 1.3.2 共计三次。

1.3.4 将组织充分进行匀浆处理、液氮研磨或剪碎。

1.3.5 执行步骤 2 的实验流程。

2. 核酸提取

2.1 在步骤 1 处理好的样本中加入 450 μL GD Lysis Buffer 和 20 μL Proteinase K (20 mg/mL)，涡旋混匀。

! 注意：GD Lysis Buffer 请摇匀后使用，如果有沉淀可在 56 $^{\circ}\text{C}$ 下水浴加热，完全溶解混匀后使用。

2.2 将样本置于 56 $^{\circ}\text{C}$ 振荡金属浴中消化 0.5 ~ 3 h，期间颠倒混匀 3 次，促进酶消化反应。

! 注意：1) 消化时间取决于样本类型及组织破碎效果，推荐白细胞沉淀、培养细胞消化时间为 30 min，组织样本消化时间为 1 ~ 3 h。

2) 消化完成后，若消化液中存在明显不消化的杂质，12000 rpm 离心 3 min 去除杂质，将上清溶液转移至新的 1.5 mL 离心管中，再执行步骤 2.3。

2.3 室温放置 5 min 后，加入 200 μL 异丙醇，振荡混匀 10 sec。

! 注意：如加入异丙醇后出现絮状物或果冻状的胶体，务必在加入磁珠前用吸头挑除，以免与磁珠粘连，降低 DNA 得率。如出现分层现象，可补加 50 ~ 100 μL Nuclease-Free Water 后混匀。

2.4 加入 20 μL Silic Beads B，振荡混匀 30 sec，室温静置 10 min，每隔 3 min 振荡混匀一次。

! 注意：Silic Beads B 需提前室温放置 30 min，涡旋混匀后再使用。

2.5 瞬时离心后，将离心管置于磁力架上静置 2 min，待溶液完全澄清后，小心去除上清液。

2.6 将离心管从磁力架上取下，加入 800 μL Wash Buffer G I，振荡混匀 10 sec。

! 注意：Wash Buffer G I 确认加入相应体积无水乙醇后，方可使用。

2.7 瞬时离心后将离心管放置于磁力架上静置 2 min，待溶液完全澄清，小心去除上清液。

2.8 将离心管从磁力架上取下，加入 800 μ L Wash Buffer G II，振荡混匀 10 sec。

! 注意：Wash Buffer G II 确认加入相应体积无水乙醇后，方可使用。

2.9 瞬时离心后将离心管置于磁力架上静置 2 min，待溶液完全澄清，吸弃所有溶液，打开管盖，空气干燥 1 ~ 2 min。

! 注意：乙醇残留会影响后续酶的反应，所以干燥时要确保乙醇挥发完全，也需要避免过度干燥磁珠，造成 DNA 洗脱效率降低。

2.10 加入 50 μ L Elution Buffer，涡旋混匀，室温孵育 3 min。

2.11 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，将上清液转移至新的离心管中。

2.12 洗脱后的 DNA 可直接用于后续实验，或置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

实验流程 2：仪器自动法操作步骤

该操作以奥盛 Auto-Pure 32A 全自动核酸提取仪提取血液样本为例，可同步完成 32 份血液样本的提取操作。

！ 注意：如使用其它品牌的全自动核酸提取仪，请结合本说明书操作步骤并咨询服务厂商。

1. 样本处理

请参考（实验流程 1.1）：手动法操作步骤中的“血液样本”提取流程进行实验。

2. 96 孔板加液准备

请参考下表，向 96 深孔板各孔位中加入相应试剂：

样本孔位	1/7	2/8	3/9	4/10	5/11	6/12
试剂	GD Lysis Buffer +Proteinase K +异丙醇	Wash Buffer G I	Wash Buffer G II	/	Silic Beads B +Nuclease- Free Water	Elution Buffer
体积	450 μ L+20 μ L + 200 μ L(后加)	800 μ L	800 μ L	/	20 μ L + 80 μ L	50 μ L

！ 注意：

- 每次吸取磁珠前请务必涡旋混匀；
- 异丙醇在裂解完毕后取出手动加入，其余试剂均可提前加入；
- 为提高工作效率，建议使用多通道移液器；
- 试剂加板完毕请尽快上机，防止试剂挥发导致实验结果不稳定。

3. 上机提取

3.1 将处理好的样品加入 450 μ L GD Lysis Buffer 与 20 μ L Proteinase K (20 mg/mL) , 涡旋混匀后加入 1/7 列孔位中。

3.2 将上样完毕的 96 孔深孔板置于奥盛 Auto-Pure 32A 型自动核酸提取仪中, 插入磁套棒, 打开仪器操作软件, 运行“gDNA 裂解与消化程序”。

“gDNA 裂解与消化程序”参数设置如下, 如果原程序不慎丢失, 可自行设定程序。

步骤	孔位	名称	混合时间 (min)	吸磁时间 (sec)	等待时间 (min)	容 积 (μ L)	混合速度 (1~10)	温 度 ($^{\circ}$ C)
1	1	裂解消化	10	0	0	500	5	95

3.3 将 96 孔深孔板取出室温静置 3 min, 然后在 1/7 孔位中加入 200 μ L 异丙醇, 打开仪器操作软件, 运行“gDNA 提取程序”。

步骤	孔位	名称	混合时间 (min)	吸磁时间 (sec)	等待时间 (min)	容 积 (μ L)	混合速度 (1~10)	温 度 ($^{\circ}$ C)
1	5/11	磁珠转移	1.0	60	0.0	100	5	OFF
2	1/7	DNA 结 合	10.0	60	0.0	650	5	OFF
3	2/8	清洗液 I	2.0	60	0.0	800	5	OFF
4	3/9	清洗液 II	2.0	60	2.0	800	5	OFF
5	6/12	洗脱	5.0	60	0.0	50	5	OFF
6	3/9	弃磁珠	1.0	0	0.0	800	5	OFF

4. 核酸转移

4.1 程序运行完毕, 将 6/12 孔中的 DNA 洗脱液转移至新的 1.5 mL 离心管中, 丢弃 96 孔深孔板和磁套。

4.2 洗脱后的 DNA 可直接用于后续实验, 或置于 -20 $^{\circ}$ C 保存。

欣基（杭州）生物科技有限公司

WisGen BioSciences Co., Ltd

Add：浙江省杭州市钱塘区福城路 400 号 6 幢 8 层

Service：order@wisgen.cn Web：www.wisgen.cn

