

磁珠法动物组织基因组DNA提取试剂盒

MagBeads Tissues Gen DNA Extraction Kit

【目录号】TGDE-5005、TGDE-5030

【运输条件】2~25℃；

【保存条件】磁珠悬浮液 4℃，蛋白酶K -20℃，其它组分室温保存；

【试剂盒组成】

Kit Component 试剂盒组成	TGDE-5005 (50T)	TGDE-5030 (300T)
① TGDE-Buffer 裂解液	25 mL	150 mL
② TGDE Magnetic Beads 磁珠悬浮液	5 mL	30 mL
③ Wash Buffer 清洗液	35 mL	210 mL
④ Dealcohol Buffer 除醇液	20 mL	120 mL
⑤ Elute Buffer 洗脱液	5 mL	30 mL
⑥ Proteinase K Soln. 蛋白酶 K 溶液	1mL	6mL

【注意事项】

1. 磁珠悬浮液严禁反复冻融和离心，使用前请充分混匀；
2. 使用前请检查裂解液中是否出现结晶，如有结晶请置于65℃水浴重新溶解；
3. 蛋白酶K长期不使用，请置于-20℃保存，融化后4℃保存，并尽快使用；
4. 如需去除RNA请自备RNase A溶液(100mg/mL，分散液：10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH值8.0)；
5. 本操作指南经本公司反复验证，使用前请仔细阅读，并且按照操作指南的建议操作。

【产品简介】

本产品适用于从各种动物组织或者细胞样本中提取基因组DNA。试剂盒采用具有独特分离作用的纳米磁珠和独特的缓冲液系统。特殊技术包埋的纳米磁珠在特定条件下对核酸具有极强的亲和力，而当条件改变时可以释放所吸附的核酸，从而达到快速分离纯化核酸的目的。

本试剂盒提取所得基因组DNA产物得量高、纯度好，适用于各种下游分子生物学实验，如：酶切、PCR、QPCR、文库构建、Southern杂交、芯片检测和高通量测序等。本试剂盒可配合自动化核酸提取仪或工作站使用，实现高通量操作。

【试剂盒说明】

组织样本类型		样本量 (mg)	核酸得量 (μg)	
动物	哺乳动物	脑	35	20-30
		心脏	35	20-30
		肝脏	35	30-50
		脾脏	35	50-70
		肾	35	30-50
		肺	35	50-70
		肌肉组织	55	5-15
	毛发	2~50 根	0.1-3	
	其它组织	鱼类	55	5-15
		虾类	55	5-15
贝类		55	30-60	

【自备仪器、耗材及试剂】

仪器自动版： 研钵或组织研磨仪、核酸提取仪、核酸提取仪配套用磁棒套、水浴锅或金属浴、涡旋振荡仪、96孔方孔圆底板、80%乙醇、异丙醇、液氮。

手动版： 研钵或组织研磨仪、水浴锅或金属浴、涡旋振荡仪、真空干燥箱、80%乙醇、异丙醇、2.0mL离心管、磁力架、液氮。

【仪器自动版操作步骤】

本操作以英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪为例，同步可完成32个样本的提取。

1. 准备96孔板

参照下表用量，向96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	磁珠悬浮液 80μL 清洗液 600μL	异丙醇 400μL	80%乙醇 600μL	80%乙醇 600μL	除醇液 400μL	洗脱液 100μL

注： 1) 每次吸取磁珠悬浮液前尽量摇晃均匀；2) 为提高效率建议使用排枪；3) 试剂加板完毕请尽快使用，防止醇挥发导致结果波动。

2. 样本前处理

组织样本:

取适量组织样本，液氮研磨至粉末状，全部转移至2.0mL离心管中，加入500 μ L裂解液和20 μ L蛋白酶K溶液，涡旋振荡1~3min至呈现云雾状；

注：针对毛发样本，可剪除毛发根部，毛干部分剪成1~5mm长度。

细胞样本:

用离心管收集细胞（细胞个数： $5 \times 10^1 \sim 5 \times 10^7$ ），使用PBS清洗2遍，加入500 μ L裂解液和20 μ L蛋白酶K溶液，涡旋振荡1~3min重悬细胞。

3. 样本裂解

将离心管置于65 $^{\circ}$ C水浴锅中温浴15min，每隔5min颠倒混匀一次。结束后将离心管12,000rpm、室温（勿低于15 $^{\circ}$ C）离心5min，待用。

注：如需去除RNA，可先加入5 μ L RNase A，再加热裂解。

4. 上机提取

裂解完毕，将离心管中所有上清液（勿超过550 μ L）转移至准备好的96孔板第2或8列孔位中，然后将96孔板置于ETP-300型核酸提取仪中，插入磁棒套、打开仪器操作软件、调用“动物组织DNA提取实验方法”程序，并运行。

“动物组织DNA提取实验方法”程序各参数设置如下，如果原程序不慎丢失，可自行设定：

步骤编号	孔位	运行类型	振荡时间(秒)	分离时间(秒)	挥发时间(秒)	振荡幅度	振荡强度	一组温度($^{\circ}$ C)	二组温度($^{\circ}$ C)	三组温度($^{\circ}$ C)	四组温度($^{\circ}$ C)
1	1	磁珠转移	2	2	0	5	强	0	0	0	0
2	2	DNA 结合	240	2	0	4	中	0	0	0	0
3	1	清洗 1	180	2	0	5	强	0	0	0	0
4	2	DNA 结合	480	2	0	4	中	0	0	0	0
5	1	清洗 1	180	2	0	5	强	0	0	0	0
6	3	80%乙醇	180	2	0	5	强	0	0	0	0
7	4	80%乙醇	120	2	0	5	强	0	0	0	0
8	5	除醇	0	2	0	3	强	0	0	0	0
9	6	洗脱	360	20	0	2	中	60	60	60	60
10	3	弃磁珠	10	0	0	5	强	0	0	0	0

5. 核酸转移

程序运行完毕，取下96孔板，将洗脱液转移至干净离心管或者PCR板中，提取过程完毕。

【手动版操作步骤】

1. 样本前处理、裂解

参考【仪器自动版操作步骤】步骤2、步骤3操作。

2. 核酸结合

将裂解完毕所有上清液转移至新的离心管中，加入80 μ L磁珠悬浮液以及400 μ L异丙醇，颠倒混匀，涡旋振荡6min，静置2min。

3. 磁性分离

将离心管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，如果离心管内盖有磁珠，可保持离心管在磁力架上，整体上下颠倒2~3次至磁珠被完全吸附。保持离心管固定于磁力架上，用移液枪吸弃上清液，期间避免接触磁珠。

4. 清洗

1) 将离心管从磁力架上取下，加入600 μ L清洗液，高速涡旋振荡1min，重新置于磁力架上磁性分离，弃上清液（参考步骤3操作）。

2) 使用600 μ L 80%乙醇，参考步骤4(1)操作2遍。

5. 除醇（如下方法任选其一）

方法1：将除尽上清液后的离心管置于磁力架上，一同放入45 $^{\circ}$ C真空干燥箱中，干燥约10min至无明显乙醇味。

注：亦可置于通风橱通风或电风扇直吹约10min，具体时间以磁珠干透无乙醇味为准。

方法2：将弃尽上清液后离心管保持在磁力架上，加入400 μ L除醇液，快速手摇润洗吸附的磁珠表面，之后快速弃去除醇液。

注：该步骤操作时间不宜过长，且不可吹散磁珠，否则影响核酸得量。

6. 洗脱

取出离心管，加入100 μ L洗脱液，用移液枪吹散磁珠，65 $^{\circ}$ C温浴10min，每隔3min涡旋振荡30s，确保磁珠与核酸洗脱完全。

7. 核酸转移

洗脱完毕后，将离心管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，用移液枪将洗脱液转移至另一干净离心管中，提取过程完毕。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南所有权利。版本：V201811.291

英芮诚生化科技（上海）有限公司

地址：上海市杨浦区国权北路 1688 号湾谷科技园 A8 座 303 室

电话：021-55809378

网址：www.bio-enriching.com

电子邮件: marketing@bio-enriching.com