

版本号: DP150612

# Magnetic Animal Tissue Genomic DNA Kit

## 磁珠法动物组织基因组DNA提取试剂盒

目录号: DP341

### 产品内容

产品组成	DP341-01 ( 50 preps)	DP341-02 (200 preps)	DP341-03 (1000 preps)
组织消化液GHA (Buffer GHA)	12 ml	50 ml	5 × 50 ml
缓冲液GHB (Buffer GHB)	20 ml	80 ml	5 × 80 ml
缓冲液GDA (Buffer GDA)	25 ml	90 ml	5 × 90 ml
漂洗液PWD (Buffer PWD)	20 ml	2 × 40 ml	5 × 2 × 40 ml
Proteinase K	1 ml	4 × 1 ml	5 × 4 × 1 ml
磁珠悬浮液G (MagAttract Suspension G)	2 × 1 ml	6 × 1 ml	5 × 6 × 1 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml	60 ml	5 × 60 ml

### 选配试剂

RNase A (100 mg/ml) (目录号: RT405-12)

### 储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于 2-8°C。2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37°C水浴中孵育10 min, 以溶解沉淀。

## 产品简介

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，从动物组织样品中分离纯化高质量基因组DNA。独特包埋的磁珠在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，而当条件改变时，磁珠会释放吸附的核酸，从而达到快速分离纯化核酸的目的。整个过程不涉及有机试剂，安全、便捷，提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠，尤其适合高通量工作站的自动化提取。

使用本试剂盒纯化的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、荧光定量PCR、文库构建、Southern杂交、芯片检测和高通量测序等实验。

## 产品特点

- 简便快捷：直接裂解，无需孵育时间，1 h内即可获得超纯的基因组DNA
- 高通量：可整合移液法自动化仪器和磁棒法自动化仪器进行高通量提取实验
- 安全无毒：无需酚/氯仿等有机试剂
- 纯度高：获得的DNA纯度高，可直接用于芯片检测、高通量测序等实验

## 提取得率

	样本	最适提取量	DNA得率( $\mu\text{g}$ )
鼠	脑	25 mg	20-30 $\mu\text{g}$
	心脏	25 mg	20-30 $\mu\text{g}$
	肝脏	25 mg	30-50 $\mu\text{g}$
	脾脏	25 mg	50-70 $\mu\text{g}$
	肺	25 mg	50-70 $\mu\text{g}$
	肾脏	25 mg	30-50 $\mu\text{g}$
	尾	大鼠0.3 cm 小鼠0.6 cm	50-80 $\mu\text{g}$
其他组织类型	肌肉组织	50 mg	5-10 $\mu\text{g}$
	鱼	50 mg	5-10 $\mu\text{g}$
	虾	50 mg	5-10 $\mu\text{g}$
	贝	30 mg	30-50 $\mu\text{g}$
微量样本	口腔拭子	1	0.2-1 $\mu\text{g}$
	干血斑	3片3 $\times$ 3 mm	0.2-1 $\mu\text{g}$

---

## 注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 本产品适用于手工提取或自动化仪器整合。
2. 自备试剂：异丙醇，乙醇。
3. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
4. 若裂解液GHB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，摇匀后使用。
5. 如需去除RNA残留，需自备RNase A（100 mg/ml）溶液（TIANGEN，RT405-12）。

## 操作步骤

使用前请先在缓冲液GDA和漂洗液PWD中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶子上的标签。

### 一、手工操作步骤：

1. 取动物组织10-50 mg，尽量剪成小块，加入200  $\mu$ l组织消化液GHA和20  $\mu$ l Proteinase K，使用电动匀浆机研磨约10 s至组织研磨充分。
  - 1) 匀浆后仍有肉眼可见的组织块的样本，建议65°C消化30 min至消化完全；
  - 2) 对于匀浆充分的样本，可以省去65°C消化的步骤；
  - 3) 对于鼠尾样本，建议于56°C消化过夜；

**注意：样本消化完成后，如果有组织碎片，建议12,000 rpm离心1 min去除残留杂质。**

**注意：如果需要去除RNA，加入4  $\mu$ l RNase A室温放置10 min (TIANGEN，RT405-12，自备)**

2. 加入300  $\mu$ l裂解液GHB，振荡混匀。
3. 将离心管置于75°C，孵育15 min，期间颠倒混匀3回，每回3-5次。
4. 室温放置5 min。
5. 加入350  $\mu$ l异丙醇，振荡混匀10 sec。
6. 加入30  $\mu$ l磁珠悬浮液G，振荡混匀1 min，共静置9 min，每3 min振荡混匀1 min。

**注意：为了确保磁珠彻底重悬，请在使用前振荡混匀。**

**对于口腔拭子和干血斑等基因组DNA含量少的样本，建议使用15  $\mu$ l的磁珠；**

**对于肌肉组织等基因组DNA含量中等的样本，建议使用20  $\mu$ l的磁珠；**

**对于鼠的脾脏等基因组DNA含量高的样本，建议使用30  $\mu$ l的磁珠。**

- 
7. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
  8. 加入700  $\mu$ l缓冲液GDA（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀30 sec。
  9. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。

**注意：如果对于DNA纯度要求更高，可以重复步骤8和9一次。**

10. 加入700  $\mu$ l漂洗液PWD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀30 sec。
11. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
12. 重复步骤10和11一次。
13. 将离心管于磁力架上，室温晾干10-15 min。

**注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱DNA。**

14. 将离心管从磁力架上取下，加入100-200  $\mu$ l洗脱缓冲液TB，振荡混匀，置于56 $^{\circ}$ C，孵育10 min，期间颠倒混匀3回，每回3-5次。
15. 将离心管放置于磁力架上静置2 min，磁珠完全吸附后，小心将DNA溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。

---

## 二、移液法自动化仪器提取步骤

### 准备工作及注意事项：

1. 本产品可整合Hamilton Microlab STAR、Beckman Coulter Biomek<sup>®</sup> FX和Capitalbio LabKeeper等移液法自动化仪器进行高通量基因组提取工作。
2. 组织样本的处理：同手工法样本处理，消化完成后转入96孔深孔板内。
3. 磁珠稀释液的配制：按照30  $\mu$ l 磁珠悬浮液G加入70  $\mu$ l 异丙醇的比例混合，混合后每个样本用量为100  $\mu$ l。
4. 对于Hamilton Microlab STAR类的仪器，有放置2 ml离心管的板位，可以不使用异丙醇来稀释磁珠，异丙醇的加入体积仍为350  $\mu$ l。每个离心管可以放入1 ml左右的磁珠，吸取磁珠前吹打混匀5次，直接进行30  $\mu$ l磁珠的分液操作，分液完成后将磁珠管盖盖好保存。
5. 对于动物脾脏、肝脏和肾脏等DNA含量丰富的样本，建议裂解后加入异丙醇吹打混匀5次以后，再加入磁珠进行混匀，避免磁珠聚集后不易进行充分的漂洗。
6. 考虑仪器设定温度和96孔板内的实际温度有一定的偏差，在裂解和洗脱时建议仪器设定温度比实际使用温度高出10 $^{\circ}$ C。

### 提取步骤：

1. 在96深孔板(自备)中加入200  $\mu$ l处理好的组织样本。
2. 每孔加入300  $\mu$ l裂解液GHB，吹吸6次。
3. 将深孔板置于75 $^{\circ}$ C，孵育15 min，振荡混匀。
4. 将加热模块温度调至25 $^{\circ}$ C，继续振荡5 min。
5. 每孔加入270  $\mu$ l的异丙醇，吹吸6次，然后振荡混匀5 min。
6. 每孔加入100  $\mu$ l磁珠稀释液，吹吸6次，然后振荡混匀10 min。
7. 将深孔板放置于磁力架上静置2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
8. 将深孔板从磁力架上取下，加入100  $\mu$ l缓冲液GDA，振荡混匀2 min。然后再加入600  $\mu$ l缓冲液GDA，吹吸6次，然后振荡混匀2 min。
9. 将深孔板放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，吸去液体。

**注意：如果对于DNA纯度要求更高，可以重复步骤8和9一次。**

- 
10. 将深孔板从磁力架上取下，加入100  $\mu\text{l}$ 漂洗液PWD，振荡混匀1 min。然后加入600  $\mu\text{l}$ 漂洗液PWD，吹吸6次，然后振荡混匀2 min。
  11. 将深孔板放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，吸去液体。
  12. 重复步骤10和11一次。
  13. 将深孔板置于磁力架上，37°C晾干5 min。
  14. 将深孔板从磁力架上取下，加入100-200  $\mu\text{l}$ 洗脱缓冲液TB，置于65°C，振荡混匀10 min。
  15. 将深孔板放置于磁力架上静置2 min，磁珠完全吸附后，小心将DNA溶液转移至收集板中，并于适当条件保存。

---

### 三、磁棒法自动化仪器提取步骤：

#### 准备工作及注意事项：

1. 本产品在Thermo KingFisher Flex等自动化仪器上整合成功。
2. 组织样本的处理：同手工法样本处理，消化完成后转入96孔深孔板内。
3. 将300  $\mu$ l缓冲液GHB、700  $\mu$ l缓冲液GDA、700  $\mu$ l漂洗液PWD和100-200  $\mu$ l洗脱缓冲液TB分别加到96孔板相应的位置上，将30  $\mu$ l磁珠G加入到700  $\mu$ l缓冲液GDA中。
4. 使用磁棒法仪器也可以按照移液法仪器的操作步骤，需要裂解步骤完成后，设置暂停步骤再加入异丙醇。

#### 提取步骤：

1. 将处理好的组织样本加入到含有裂解液GHB的96孔样品板里。
2. 将96孔板置于自动化提取仪中，75 $^{\circ}$ C孵育15 min，期间中速和快速间隔拍打混匀。
3. 仪器暂停后，每孔加入350  $\mu$ l异丙醇，快速拍打混匀5 min。
4. 使用磁力套深入到含有磁珠的缓冲液GDA的孔中，快速拍打混匀1 min，吹散磁珠。
5. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
6. 将磁珠转移到含有组织消化液和裂解液GHB的孔中，释放磁珠，中速和快速间隔拍打混匀10 min。
7. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
8. 将磁珠转移到含有第一遍缓冲液GDA的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。
9. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
10. 将磁珠转移到含有第二遍缓冲液GDA的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。
11. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
12. 将磁珠转移到含有第一遍漂洗液PWD的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。
13. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
14. 将磁珠转移到含有第二遍漂洗液PWD的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。



TIANGEN 官方微信，专业服务助力科研：

- 可视化操作指南
  - 技术公开课合辑
  - 全线产品查询
  - 在线专家客服
  - 微信直播课堂
  - 最新优惠活动
- 

15. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
16. 磁力棒吸附磁珠后悬空晾干 5 min。
17. 将磁珠转移到含有洗脱缓冲液TB的孔中，75℃孵育，快速拍打混匀10 min。
18. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次30 sec。
19. 将吸附的废弃磁珠转移到含有漂洗液PWD的孔中，拍打混匀1 min。
20. 程序结束后，小心将DNA溶液转移至收集板，并于适当条件保存。

## DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD<sub>260</sub>处有显著吸收峰，OD<sub>260</sub>值为1相当于大约50 μg/ml双链DNA、40 μg/ml单链DNA。

OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub>比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。