

动物组织基因组 DNA 提取试剂使用说明书

【产品名称】 动物组织基因组 DNA 提取纯化试剂盒。

英文名称: Animal Tissue Genomic DNA Kit。

【包装规格】 96T/盒、100 T/盒。

【适用范围】 各类动物组织, 组织匀浆液等。

【原理】 组织样本经过组织消化液处理后与裂解缓冲液混合, 使得细胞破碎并将核酸释放。在裂解缓冲液中纳米磁珠颗粒通过表面修饰的功能基团能与游离的基因组 DNA 特异性的结合, 形成磁珠-DNA 复合物。在外磁场力的作用下, 将磁珠-DNA 复合物转移到洗涤缓冲液中, 洗去多余的杂质。再在外磁场力的作用下转移到洗脱缓冲液中, 将 DNA 洗脱回收。

【组成成份】

货号	021601	021602	主要成分
试剂盒规格	100T	96T	
蛋白酶 K	2mL	2mL	蛋白酶 K 溶液
样品处理液 ETB	30mL	30mL	高盐溶液
Buffer ATL	50mL	96 孔预分装试剂板 6 块	强变性剂和 Tris 缓冲液
Buffer WA	25mL		高盐溶液
Buffer WB×2	14mL×2		低盐溶液
Buffer DE	10mL		Tris 盐溶液
磁珠	1.5mL		羟基磁珠溶液
说明书	1	1	

注: 若购买的是 021601 请在使用前在 Buffer WA 中加入 25mL 的无水乙醇。在 Buffer WB 中加入 56mL 的无水乙醇。无水乙醇(分析纯)请用户自备。

【储存及有效期】

1、试剂盒可在常温保存。

2、试剂盒有效期为 12 个月, 请在有效期内使用, 开封试剂盒 1 个月内使用有效。

【适用设备与仪器】

磁性分离架或者磁棒式的全自动核酸提取仪。

【样本要求】

该试剂盒可以提取动物肌肉组织、动物内脏、鼠尾、鱼鳍等样本。

【操作方法】

一、若购买的是 021601 请按照如下手工操作方法进行实验(用户自备磁性分离架)。

1、组织样本前处理

- 动物肌肉组织, 动物内脏之类的样本, 烘干后研磨或直接在液氮中研磨成粉末待用。
- 鼠尾样本, 可以剪取一定长度的鼠尾, 一般大鼠 3mm, 小鼠 6mm, 然后再烘干研磨或者直接在液氮中研磨成粉末待用。
- 鱼鳍样本, 可以直接将新鲜的鱼鳍剪碎后待用, 也可以将鱼鳍烘干后, 剪取 4mm*4mm 大小的鱼鳍, 然后再剪碎后待用。

2、组织消化处理

- 称取 25-30mg 上述前处理后的组织样本到 1.5mL 无菌离心管。
- 加入 300 μ L 样品处理液 ETB 和 20 μ L 的蛋白酶 K, 充分振荡混匀, 可以用移液器吹打混匀。
- 将离心管放入 56 $^{\circ}$ C 的金属浴或水浴中, 温浴 30min (鼠尾和鱼鳍样本可以延长至 1-2h), 期间每隔 10min 上下颠倒离心管几次。
- (可选) 温浴完成后, 加 2 μ L 的 RNaseA (100mg/ml), 混匀静置 5min。请 12000-15000rpm (或 12000g-15000g), 离心 5min。

3、取上清液到新的离心管里, 加入 300 μ L Buffer ATL 和 200 μ L 的异丙醇(用户自备), 充分振荡混匀, 将离心管放入 56 $^{\circ}$ C 金属浴或水浴中 20min, 期间每隔 5min 上下颠倒离心管几次。

4、加 15 μ L 已混匀的磁珠到离心管中, 充分振荡, 使磁珠分散在溶液中, 室温放置 10min, 期间每隔 2-3min 上下颠倒离心管几次。

5、将离心管放入磁性分离架, 使其吸附磁珠, 磁吸时间 1min, 吸弃液体, 从磁性分离架上移开离心管。

6、加入 500 μ L Buffer WA 到离心管中, 振荡混匀 2min, 尽可能将磁珠振到完全分散, 使用磁性分离架吸附磁珠, 吸弃液体, 从磁性分离架上移走离心管。

7、加入 700 μ L Buffer WB 到离心管中, 上下颠倒混匀 1min, 确保磁珠完全分散, 使用磁性分离架吸附磁珠, 吸弃液体。

8、从磁性分离架上移走离心管, 重复步骤 7 一次(注意: 此步骤确保液体弃干净)。

9、室温开盖干燥 5min。

10、加 100 μ L Buffer DE，振荡混匀，此时离心管壁可能会粘附磁珠，可以用移液器吸起离心管里的 Buffer DE 将其吹打下来，将离心管放至 60 $^{\circ}$ C 金属浴或水浴中 10min（注意：期间每隔 2-3min 混匀几次）。

11、使用磁性分离架吸附磁珠，吸取含有 DNA 的液体转移到干净无菌的离心管备用。

二、 配套自动化仪器使用，以本公司生产的全自动核酸提取仪为例。

1、组织样本前处理与手工提取一致。

2、组织消化处理与手工提取一致。

3、试剂准备

a. 若购买的是 021601 请按照如下操作方式进行。

在 96 孔深孔板的第 1、7 列中各加入 300 μ L Buffer ATL 和 200 μ L 的异丙醇（用户自备），在第 2、8 列中各加入 600 μ L Buffer WA（请确认已加无水乙醇）和 20 μ L 磁珠，在第 3、9 列中各加入 500 μ L Buffer WA，在第和 4、10、5、11 列中各加入 5 列中各加入 700 μ L Buffer WB（请确认已加无水乙醇），在第 6、12 列中加入 100 μ L Buffer DE（注意：磁珠在加入前已经混合均匀）。

b. 若购买的是 021602 请按照如下操作方式进行。

将室温放置的 96 孔试剂板颠倒 3-5 次，有条件的用户可以在去除塑封膜前在 96 孔板离心机中短暂离心，若没有离心机也可以手甩，避免挂液。小心撕去塑封膜，确认板子的方向（磁珠在 2/8 列）。

4、在 96 孔板的第 1、7 列中各加入组织消化处理后的上清液 200 μ l。

5、将 96 孔板放入全自动核酸提取仪的指定位置中，装上磁棒护套。

6、请按以下程序进行实验。

运行 流程库 编辑 选项 报告 关机 ? 关于																	
编号: 210323-143417 名称: 动物组织DNA提取																	
步骤	孔位	液量 (uL)	浸泡 (秒)	搅拌强度 (级)	搅拌时间 (秒)	下降吸磁 (秒)	液底吸磁 (秒)	吸磁次数 (次)	等待 (秒)	暂停 关/开	板1裂1 (°C)	板1裂2 (°C)	板1脱 (°C)	板2裂1 (°C)	板2裂2 (°C)	板2脱 (°C)	风扇 关/开
1	2	600	0	4	15	30	5	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	550	0	4	300	20	3	2	0	0	65	0	0	65	0	0	0
3	2	600	0	5	60	20	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	3	600	0	5	60	20	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	4	600	0	5	60	20	3	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	5	600	0	5	60	20	3	2	60	0	0	0	0	0	0	0	0
7	6	100	0	3	180	20	3	5	0	0	0	0	65	0	0	65	0
8	5	600	0	6	20	15	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

7、仪器程序运行结束后，将第 6、12 列的 Buffer DE 转移至干净的无菌离心管子中备用，如不急需用 DNA，可以将其放入 -20 $^{\circ}$ C 冻存。

【产品性能参考数值】

提取的 DNA OD260/OD280 比值：1.7-2.0。

【产品的局限性】

样本：本试剂盒最适合提取样本量为 25-30mg。

结果解释：本试剂盒手工提取的效率可能会比仪器提取稍低，由于手工操作会有一些的误差造成的。

【注意事项】

- 1、 Buffer WA 和 Buffer WB 按要求加入无水乙醇（分析纯）。
- 2、 如果室温过低，样品处理液 ETB 和 Buffer ATL 可能会有少许晶体析出或变浑浊，只需将其盖子拧紧放入 55 $^{\circ}$ C 的水浴中预热 5-10min，确认溶液澄清后再使用，对提取效果无影响。
- 3、 上述的程序适用于全自动核酸提取仪，如果用户使用其他品牌的核酸提取仪，需根据实际使用的仪器性能进行调整程序。
- 4、 试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜，一旦直接接触，请立即用大量清水冲洗。