

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（磁珠法）

英文名称: Animal Tissue Genomic DNA Kit

【包装规格】 50T/盒、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	021601-50	021601-100	021602-96
试剂盒规格	50T	100T	96T
蛋白酶 K	1mL	2mL	2mL
样品处理液 ETB	15mL	30mL	30mL
Buffer ATL	25mL	50mL	96 孔预分装试剂板 6 块
Buffer DW1	33mL	66mL	
Buffer DW2	14mL	14mL×2	
Buffer DE	10mL	10mL	
磁珠	1.5mL	1.5mL×2	
说明书	1	1	1

注：若购买的是 021601-50、021601-100 请在使用前在 Buffer DW1、DW2 中加入无水乙醇。无水乙醇（分析纯）请用户自备。

	50T	100T
Buffer DW1	33ml	66ml
乙醇	20ml	40ml

	50T	100T
Buffer DW2	14ml	14ml×2
乙醇	56ml	56ml×2

【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。

【适用设备与仪器】

16、32 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】

1、组织样本前处理

- a. 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。
- b. 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。
- c. 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

- a. 称取 25-30mg 上述前处理后的组织样本到 1.5mL 无菌离心管。
- b. 加入 300μL 样品处理液 ETB 和 20μL 的蛋白酶 K，充分振荡混匀，可以用移液器吹打混匀。
- c. 将离心管放入 56℃ 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。
- d. （可选）温浴完成后，加 2μL 的 RNaseA（25mg/ml；用户自备），混匀静置 5min。请 12000-15000rpm（或 12000g-15000g），离心 5min。

3、试剂准备

a.若购买的是 021601-50、021601-100 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 500μL Buffer ATL 和 200μL 的异丙醇（用户自备），在第 2、8 列中各加入 500μL Buffer DW1（请确认已加无水乙醇）和 30μL 磁珠，在第 3、9 列中各加入 500μL Buffer DW1，在第和 **4、10、5、11** 列中各加入 5 列中各加入 600μL Buffer DW2（请确认已加无水乙醇），在第 6、12 列中加入 100μL Buffer DE（注意：磁珠在加入前需混合均匀）。

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。

步骤	孔位	步骤说明	等待时间 (min: sec)	混合时间 (min: sec)	吸磁时间 (sec)	体积 (μ l)	混合速度	加热设置	温度 ($^{\circ}$ C)
1	2	Trans	0: 0	0: 0	30	500	快	关闭	0
2	1	Bind	0: 0	10: 0	60	900	中	打开	80
3	2	W1	0: 0	1: 0	30	500	快	关闭	0
4	3	W2	0: 0	1: 0	30	500	快	关闭	0
5	4	W3	0: 0	1: 0	30	600	快	关闭	0
6	5	W4	0: 0	1: 0	30	600	快	关闭	0
7	6	Eltue	2: 0	5: 0	60	100	中	打开	70
8	4	Drop	0: 0	0: 10	0	600	快	关闭	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,如不急需使用 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 DW1 和 Buffer DW2 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。