

磁珠法基因组 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

磁珠法基因组 DNA 提取试剂盒	100 次制备
Cat. No.	M001100
蛋白酶 K 贮存液	1.2 ml×2
磁珠	4.5 ml
Buffer AT	25 ml
Buffer LC	65 ml
Buffer W1	90 ml
Buffer WS	90 ml
Buffer WB（浓缩液）	30 ml
Buffer TE	15 ml
说明书	1 份

产品储存与有效期

1. 蛋白酶 K 贮存液可常温（0~30℃）运输和存放，有效期为 12 个月；长期不用可储存于 -20℃，可延长有效期至两年。
2. 其他试剂与物品储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本产品适合从 200 μl 抗凝全血（推荐 EDTA 抗凝）、唾液、骨髓，5~10×10⁶ 培养细胞，10~50 mg 动物组织中提取基因组 DNA。试剂盒提供的试剂可预先分装到 2.2 ml 的 96 深孔板中，配合磁珠法核酸自动化提取仪，只需在装有 Buffer LC 的孔中加入处理好的样本，即可由仪器自动化完成样本 DNA 的释放、吸附、洗涤及洗脱等一系列过程，最后获得的 DNA 溶解在 Buffer TE 中，并可立即用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇，可能需要 PBS 溶液或生理盐水
2. 1.5 ml 离心管、96 深孔板（2.2 ml），如果用户需要预分装好试剂的 96 深孔板及磁棒套，请另购产品序号为 M001064 的预分装磁珠法基因组 DNA 提取试剂盒
3. 移液器及吸头（为避免样品间的污染，请选用含有滤芯的移液器吸头）
4. 一次性手套及防护用品和纸巾
5. 磁珠法核酸自动化提取仪，可能需要漩涡振荡器、水浴锅

使用前准备

根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤

1. 开启核酸自动化提取仪，按下图步骤设置好程序。

步骤	孔位	液量 (μL)	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)	等待时间 (秒)	暂停 关/开	板1裂解 (°C)	板1洗脱 (°C)	板2裂解 (°C)	板2洗脱 (°C)
1~99	1~6	20~1200	0~255	1~6	0~9999	5~600	0~255	0~255	0~9999	0/1	0~125	0~125	0~125	0~125
1	5	850	0	1	0	30	3	1	0	0	0	0	0	0
2	1	800	0	5	600	60	3	2	0	0	60	0	60	0
3	2	800	0	6	300	60	3	1	0	0	0	0	0	0
4	3	800	0	6	300	30	3	1	0	0	0	0	0	0
5	4	800	0	6	180	30	3	1	0	0	0	0	0	0
6	5	850	0	6	180	30	3	1	600	0	0	0	0	0
7	6	100	0	5	600	60	60	2	0	0	0	60	0	60
8	1	800	0	5	5	5	0	0	0	0	0	0	0	0

* 上述程序是根据本公司的核酸自动提取仪（Cat. No. Sim-300）设计，如果用于其他公司仪器，请根据仪器特点适当调整程序中的各个参数，或者拨打 400-0099-857 电话获取技术支持。

2. 按步骤 A~F 在 96 深孔板中预分装试剂。

* 该试剂分装方案是根据本公司的核酸自动提取仪（Cat. No. Sim-300）设计，其他公司仪器的加热位置可在第 5 列和第 11 列，请根据仪器调整分装方案，或者拨打 400-0099-857 电话获取技术支持。

- 在 96 深孔板第 1 列和第 7 列每孔加入 600 μl Buffer LC；
- 在 96 深孔板第 2 列和第 8 列每孔加入 800 μl Buffer W1；
- 在 96 深孔板第 3 列和第 9 列每孔加入 800 μl Buffer WS；
- 在 96 深孔板第 4 列和第 10 列每孔加入 800 μl Buffer WB；
- 用力摇晃装有磁珠的试剂瓶，使缓冲液中的磁珠颗粒充分悬浮，先在 96 深孔板第 5 列和第 11 列每孔加入 40 μl 磁珠后，再加入 810 μl 无水乙醇；
- 必须充分悬浮磁珠后再分装，否则可能导致后续 DNA 回收效率不均一。
- 在 96 深孔板第 6 列和第 12 列每孔加入 100 μl Buffer TE。

注意：试剂分装后，应立即进行 DNA 的提取，否则 Buffer W1、Buffer WS 和 Buffer WB 中的醇类可能挥发，导致最终提取的 DNA 纯度降低。如果是从动物组织中提取基因组 DNA，由于包含水浴步骤，耗时较长，建议先按步骤 3C 处理组织样本，再分装试剂。

3A. 从抗凝全血、唾液或骨髓中提取基因组 DNA：

在已分装好试剂的 96 深孔板中的第 1 列和第 7 列各孔（装有 Buffer LC 的孔）中加入 200 μl 抗凝全血、唾液或骨髓，再加入 20 μl 蛋白酶 K 贮存液。

* 如果有核红细胞抗凝全血样本，则取 5-10 μl 有核红细胞抗凝全血到 1.5 ml 离心管中，加入 190 μl PBS 溶液或生理盐水混匀，再加入 96 深孔板中。

* 唾液中 DNA 容易降解，唾液样本采集后如果不能立即提取 DNA，应及时冻存到 -20℃ 备用；或者购买唾液 DNA 保存液（Simgen Cat. No. 3522100）与唾液混合后室温存放。

3B. 从培养细胞中提取基因组 DNA：

- a. 在 1.5 ml 离心管中收集 $5\sim 10\times 10^6$ 培养细胞，加入 180 μ l PBS 溶液或生理盐水，旋涡振荡充分悬浮细胞。
- b. 将悬浮细胞全部加入到已分装好试剂的 96 深孔板中的第 1 列和第 7 列各孔（装有 Buffer LC 的孔）中，再加入 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液。

3C. 从动物组织中提取基因组 DNA：

- a. 用一次性手术刀片切取 10~50 mg 动物组织（脾脏应少于 10 mg，大鼠尾 0.4~0.6 cm 一段或小鼠尾 0.4~0.6 cm 两段，节肢动物组织尽量达到 50 mg），再用刀尖将组织剁成匀浆状，转移到一个 1.5 ml 离心管中。

* 必须将组织颗粒剁成匀浆状，方能缩短组织的溶解时间。

* 如果所提取的组织中含较多结缔组织，例如皮肤、肌腱、鼠尾等，则应用手术刀刀尖将组织切成尽量小的碎屑，以缩短溶解时间。

- b. 加入 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液，再加入 180 μ l Buffer AT，旋涡振荡数秒使组织匀浆分散开来。

- c. 56°C 水浴 10-30 分钟，期间旋涡振荡数次帮助组织溶解。

* 如果水浴 30 分钟后发现仍有不可溶解的组织颗粒存在，可延长水浴时间直至组织全部溶解。

* 对于皮肤、肌腱、鼠尾等难以溶解的组织，可在 56°C 水浴过夜，或者将离心管放入恒温混匀器或摇床中 56°C，200 rpm 温育直至组织彻底溶解。

- d. 将组织溶解物全部加入到已分装好试剂的 96 深孔板中的第 1 列和第 7 列各孔（装有 Buffer LC 的孔）中。

4. 将 96 深孔板放入核酸自动化提取仪中，插入磁棒套，稍用力推到底，安装到位后有轻微的“咔嗒”声，点击“运行”。

* 从新鲜的样本中提取 DNA 时，可能会同时获得部分 RNA，但是 RNA 的存在并不影响 PCR 相关的实验。

若需去除 RNA，请在 96 深孔板中的第 1 列和第 7 列各孔（装有 Buffer LC 的孔）中添加 5 μ l RNase A（需单独订购，Simgen Cat. No. 8001001）后再启动仪器。

5. 仪器运行结束后，取出 96 深孔板，收集转移第 6 列和第 12 列中的 DNA 到洁净的离心管中或直接用封口膜封住 96 深孔板，储存到 -20°C 备用。