

操作手册

组织基因组 DNA 提取试剂盒（磁珠法）

Catalog No. TB325-48 (48 次反应)

Highlights

- 可从固体组织，头发等复杂来源的样品中提取到高纯度的基因组 DNA。
- 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、高通量测序等敏感分子生物学实验。

产品组成:

试剂盒组成	保存	48 次
蛋白酶 K 及保存液	-20°C	20mg
通用消化液（蓝色）	室温	6ml
磁珠结合液	室温	50 ml
基因组 DNA 洗涤液 1	室温	30 ml
基因组 DNA 洗涤液 2	室温	2x50 ml
基因组 DNA 洗脱液	室温	10 ml
磁珠	室温	2 ml

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

环境温度低时基因组固体组织消化液或者基因组 DNA 洗涤液 1 可能出现析出和沉淀，可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解使用。

特性:

- **样品种类:** 固体组织，毛发，保存在保护剂里的样品等。获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接应用 PCR，高通量测序等各种分子生物学实验。
- **基因组 DNA 大小:** 一般可回收到大于 50 kb 的基因组 DNA。如果样品中存在线粒体 DNA，病毒 DNA 等也会一起提取到。
- **DNA 纯度:** 获得的基因组 DNA 产量高、纯度好，可以直接用 PCR 等各种分子生物学实验。

一般情况 $Abs_{260/230} \geq 1.8$ 。

- **基因组 DNA 产量:** 每 50 μ l 磁珠最多可结合 10 μ g 基因组 DNA。

样品来源:

固体样品:

可从 $\leq 25\text{mg}$ 尾巴, 耳朵, 器官活检 (脑, 肝, 心脏, 肾, 肌肉, 胃, 膀胱, 肠) 等样品里提取到总 DNA。

- 可采用 55°C 过夜蛋白酶 K 消化步骤。
- 针对头发, 毛发等组织。参看附录。

试剂制备:

在操作之前, 需添加 $1060\mu\text{l}$ 蛋白酶 K 保存液到每管蛋白酶 K (20mg) 中。蛋白酶 K 溶液的浓度为 20mg/ml , 混匀后, 需要放到 -20°C 长期保存。

提取步骤:

裂解环节:

固体组织

1. 添加 $\leq 25\text{mg}$ 的组织到一个 2ml 的96孔板里, 并且添加:

95 μl 水

95 μl 通用消化液 (蓝色)

10 μl 蛋白酶K

2. 混匀或者涡旋振荡10-15秒然后在 55°C 下孵育1-3个小时或者直到组织溶解, 进行下一步之前混匀。

注意: 如果消化后的样品中仍然有不溶解的组织, 需要在 $\geq 3,000 \times g$ 的离心力下离心4分钟, 然后将上清 $\sim 400\mu\text{l}$ 转移到一个干净的96孔板中进行下面的操作。

3. 添加等体积 $\sim 400\mu\text{l}$ 的磁珠结合液到上清中, 用枪头混匀或振荡1分钟。

纯化环节：

以下步骤的混匀步骤即可以用移液器上下吹打也可以使用专业的震动摇床（rpm1200）。

4. 将混匀的磁珠添加 30 μ l 到 96 孔的样品孔中。混匀 10 分钟。
5. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
6. 添加 500 μ l 的磁珠结合液到 96 孔样品孔中混匀 10 分钟。
7. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
8. 添加 500 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 1 到 96 孔样品孔中混匀 1 分钟。
9. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
10. 添加 900 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 96 孔样品孔中混匀 1 分钟。
11. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
12. 添加 900 μ l 的基因组 DNA 洗涤液 2 到 96 孔样品孔中混匀 1 分钟。
13. 将 96 孔板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 96 孔板从磁力架上移走。
14. 将 96 孔板移到一个加热模块上（55 $^{\circ}$ C）直到磁珠变干（大概 10 分钟），如果没有加热模块，可以在室温下放置 20-30 分钟自然晾干。
15. 添加 50-100 μ l 的基因组 DNA 洗脱液到每个孔中并且重悬磁珠，混匀磁珠 5 分钟，然后将 96 孔板移到一个磁力架上，放置 2-3 分钟直到磁珠完全沉淀下来。
16. 将上清（包含基因组 DNA）转到一个干净的 96 孔洗脱板内。

附录A：

保存在样本保存液中的样品

添加 20 μ l 蛋白酶 K 到 400 μ l 我公司样本保存液中的样本，简单涡旋匀浆后室温下放置 30 分钟。

1. 在 $\geq 10,000 \times g$ 离心力下离心 1 分钟。将全部上清移至一个干净的离心管里。
2. 添加等体积~400 μ l 磁珠结合液，混匀。
3. 从纯化操作步骤的第4步开始进行接下来的操作。