

组织 DNA 提取试剂盒（磁珠法）使用说明书

【预期用途】

组织 DNA 提取试剂盒（磁珠法）用于从各种组织中分离纯化出高质量、高浓度的基因组 DNA。

【检验原理】

破坏组织，释放细胞。裂解吸附液和蛋白酶 K 使细胞 DNA 与蛋白质分离。在裂解吸附液高盐低 pH 的环境下，磁珠表面的硅胶高效吸附分离的 DNA，洗涤磁珠，去除蛋白、盐等杂质在洗脱液低盐高 pH 值的情况下，硅胶释放吸附的 DNA，从而达到快速分离纯化基因组 DNA 的目的。

【试剂盒组成、贮藏及有效期】

产品编号	试剂名称	50T	100T	200T
MDT-TD02	裂解吸附液 D	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶
	RNA 清除剂	750μL×1 支	1.5mL×1 支	3mL×1 瓶
	蛋白酶 K	1mL×1 支	2mL×1 支	4mL×1 瓶
	RAW1 缓冲液	12mL×1 瓶	24mL×1 瓶	48mL×1 瓶
	磁珠	500μL×1 支	1mL×1 支	2mL×1 支
	洗脱液 B	10mL×1 瓶	20mL×1 瓶	40mL×1 瓶
	使用说明书	1 份	1 份	1 份

蛋白酶 K：常温（10-30℃）运输，-20℃保存；

磁珠和 RNA 清除剂：常温（10-30℃）运输，2-8℃保存；

其他成分：常温（10-30℃）运输保存。有效期 1 年。

【注意事项】使用前务必认真阅读以下注意事项

1. 提前配制 RAW1，RAW1 中乙醇含量低于 60%影响提取效果。
2. 提前配制 80%乙醇水溶液，80%乙醇水溶液中乙醇含量太低影响提取效果。
3. 洗脱液使用量少会影响提取效果。
4. 磁珠使用前必须充分混匀，磁珠不均匀容易导致磁珠吸取量不准确，从而影响提取效率。
5. 本试剂盒在有效期内不同批号试剂可以互换。
6. 虽然本产品无氯仿、苯等 OSHA 规定的危险物品，但操作时最好做好必要的防护措施，戴口罩手套，并且在通风的生物安全柜中进行。
7. 按当地法律法规处理生物样本和废弃物。

【样本要求】

新鲜组织、液氮中保存的组织、组织保存液保存的组织等。

【适用范围】

≤20mg 动物组织；≤100mg 植物组织。

【样本用量及 DNA 得率】

样本类型	样本用量 (mg)	DNA 得率 (μg)
肝组织	≤10	20-60
肾组织	≤10	30-120
肠组织	≤10	25-80
胃组织	≤10	25-80
脂肪组织	≤20	8-30
叶	≤30	3-12

苹果核	≤30	5-20
-----	-----	------

【自备器械和试剂】

小型高速离心机（最大离心力≥12,000×g）、振荡仪、金属浴、1.5mL 离心管、磁力架、生理盐水、无水乙醇和异丙醇等。

- **RAW1 配制：**RAW1 缓冲液使用前按照瓶身标签说明加入无水乙醇，使乙醇含量为 60%，混匀后密封常温保存。
- **80%乙醇水溶液配制：**1 份水加入 4 份无水乙醇，配制成 80%乙醇水溶液，混匀后密封常温保存。

【样本处理】

一、动物组织的处理

按下表说明使用组织的量

高丰度 DNA 的组织（如肌肉、心脏、肝、脾、胰、脑、胚胎、肾、肺、卵巢、胸腺等）	≤10mg
低丰度 DNA 的组织（膀胱、骨、脂肪）	≤20mg

1. 液氮研磨法

- 1.1 取≤20mg 组织，转移至预冷的研钵中，加液氮磨成粉末。
- 1.2 将组织粉末转移至 1.5mL 离心管中，将液氮充分挥发。用 200μL 生理盐水悬浮组织粉末。

2. 高速匀浆法

2.1 新鲜组织的处理

- 2.1.1 在 2mL 平底离心管中加入 300μL 生理盐水和≤20mg 新鲜组织，用高速匀浆器充分匀浆。
- 组织需尽量剪碎再进行匀浆。
- 匀浆必须充分，否则影响 DNA 的提取效率。
- 匀浆速度太快容易导致 DNA 断裂。

- 2.1.2 吸取 200μL 匀浆液转入至 1.5mL 离心管中。

2.2 组织保存液保存组织的处理

- 2.2.1 用 RNase-free 镊子取出组织保存液（MDT-TP01）保存的组织（冷冻的保存液需 37℃ 振荡孵育至保存液完全融化），放入 2mL 平底离心管中。
- 组织保存液保存的组织需用 75%乙醇漂洗 1 次，用吸水纸将吸干乙醇后用剪刀尽量剪碎再进行匀浆。
- 2.2.2 加入 1mL75%乙醇漂洗 1 次，充分吸弃 75%乙醇。
- 2.2.3 每 20-30mg 组织中加入 300μL 生理盐水，使用匀浆器充分匀浆。
- 组织需尽量剪碎再进行匀浆。
- 匀浆必须充分，否则影响 DNA 的提取效率。
- 匀浆速度太快容易导致 DNA 断裂。

- 2.2.4 吸取 200μL 匀浆液转入至 1.5mL 离心管中。

二、植物组织的处理

按下表说明使用植物组织的量

植物种子和嫩叶	10-30mg
植物纤维组织	30-100mg

1. 液氮研磨法

1.1 取 $\leq 100\text{mg}$ 细碎的植物组织，转移至预冷的研钵中，加液氮磨成粉末。

1.2 将组织粉末转移至 1.5mL 离心管中，将液氮充分挥发。用 $200\mu\text{L}$ 生理盐水悬浮组织粉末。

2. 高速匀浆法

2.1 在 2mL 平底离心管中加入 $300\mu\text{L}$ 生理盐水和 $\leq 100\text{mg}$ 细碎的植物组织，高速匀浆器充分匀浆。

2.2 吸取 $200\mu\text{L}$ 匀浆液转入至 1.5mL 离心管中。

►植物组织使用前应尽量搅碎（切碎）。

►匀浆必须充分，否则影响 DNA 的提取效率。

►匀浆速度太快容易导致 DNA 断裂。

【操作步骤】

1. 在含已处理样本的 1.5mL 离心管中加入 $15\mu\text{L}$ RNA 清除剂，混匀后瞬时离心， 42°C 孵育 5 分钟。

►有些组织（比如肝、脾组织）中含有丰富的 RNA，本试剂盒提取此类组织 DNA 时可能会有少量 RNA 残留，RNA 的残留会抑制某些下游酶实验。如果想获得无任何 RNA 残留的 DNA 提取物可选择此步；如果对 RNA 残留无特殊要求可直接进入第 2 步。

2. 在含已处理样本的离心管中加入 $200\mu\text{L}$ 裂解吸附液 D 和 $20\mu\text{L}$ 蛋白酶 K，充分混匀，瞬时离心。 60°C 静置孵育 10 分钟。

3. 取出离心管，开盖，加入 $280\mu\text{L}$ 异丙醇和 $10\mu\text{L}$ 混匀的磁珠，闭盖，室温 $3,000\text{rpm}$ 振荡 30 秒。

►磁珠使用前必须充分混匀。

4. 取出离心管，瞬时离心。将离心管放于磁力架上，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►磁珠吸附务必至液体清澈。

5. 加入 $600\mu\text{L}$ RAW1，闭盖。从磁力架上取下离心管，充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

6. 将离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈（吸附过程中颠倒磁力架数次，使离心管盖上残留的磁珠被充分回收）。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►磁珠吸附务必至液体清澈。

7. 加入 600 μ L 80%乙醇水溶液。从磁力架上取下离心管，充分混匀使磁珠完全分散至洗液中。

8. 将离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈（吸附过程中颠倒磁力架数次，使离心管盖上的磁珠被充分回收）。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►磁珠吸附务必至液体清澈。

9. 加入 600 μ L 80%乙醇水溶液。从磁力架上取下离心管，用移液器吹打混匀，使磁珠完全分散在乙醇水溶液中。转移乙醇水溶液中的磁珠至新的 1.5mL 离心管中。

►务必将 80%乙醇水溶液中的磁珠转移至新的 1.5mL 离心管中，否则易导致离子残留过多。

10. 将新的离心管放回磁力架，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸弃液体，保留磁珠。

►吸附磁珠务必至液体清澈。

11. 将离心管放入离心机，闭盖瞬时离心 5 秒。

12. 将离心管放回 2mL 磁力架，开盖，吸弃残留液体。

13. 将离心管放入金属浴，开盖，50 $^{\circ}$ C 烘干 2 分钟。闭盖，取出离心管。

►样本较多时，取出离心管后必须闭盖，以防磁珠过度干燥，影响洗脱效果。

14. 开盖，在离心管中加入 100 μ L 洗脱液 B，充分吹打混匀磁珠。闭盖，室温 1,500rpm 振荡 3 分钟。

►洗脱液 B 的使用量根据组织和组织类型不同适当调整。

15. 将离心管放入磁力架上，吸附磁珠至液体清澈。开盖，吸取洗脱液转移至新的离心管中。

►为了避免洗脱液中微量磁珠残留，洗脱液转移至新的离心管后，可以 10,000 $\times$ g 离心 1 分钟，以彻底去除磁珠。

【说明书编制日期】 2024 年 01 月 28 日

【基本信息】

企业名称：无锡迈德泰克生物医药有限公司

公司地址：江苏省无锡市惠山经济开发区惠山大道 1699 号生命科技产业园 C5 楼 C50206 室

网 址：www.wuxi-medtech.com

联系电话：173 1562 0564（微信同号）；

138 6175 7779 (微信同号)