

版本号: DP250417

Order: 010-59822688

Toll-free: 800-990-6057 /400-810-6057 TIANGEN BIOTECH (BEIJING) CO., LTD

1

Magnetic Universal Genomic DNA Kit

磁珠法通用型基因组DNA提取试剂盒

目录号: DP705

产品内容

产品组成	DP705-01 (50 preps)	DP705-02 (200 preps)
组织消化液GHA(Buffer GHA)	30 ml	120 ml
裂解液GHL(Buffer GHL)	20 ml	80 ml
缓冲液GDZ(Buffer GDZ)	45 ml	2×90 ml
漂洗液PWD(Buffer PWD)	20 ml	2×40 ml
蛋白酶K(Proteinase K)	1 ml	4×1 ml
磁珠悬浮液GH (MagAttract Suspension GH)	750 µl	3×1 ml
洗脱缓冲液TB(Buffer TB)	15 ml	60 ml

选配试剂

拼插式磁力架(客户自备, TIANGEN, 目录号: OSE-MF-01); 溶菌酶A(50 mg/ml)(含buffer)(客户自备, TIANGEN, 目录号: RT401-11)

储存条件

该试剂盒置于室温(15-30°C)干燥条件下,可保存15个月。若溶液产生沉淀,可在37°C水浴中预热10 min以溶解沉淀,不影响效果。

产品简介

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统,从血液、唾液、口腔拭子和动物组织等样品中分离纯化高质量基因组DNA。独特包埋的磁珠,在一定条件下对核酸具有很强的亲和力,而当条件改变时,磁珠释放吸附的核酸,能够达到快速分离纯化核酸的目的。整个操作过程安全便捷,提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠,尤其适合高通量工作站的自动化提取。

使用本试剂盒纯化的DNA适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、荧光定量PCR、文库构建、Southern杂交、芯片检测和高通量测序等实验。

产品特点

简便快捷: 1 h内即可获得超纯的基因组DNA。

高 通 量: 可整合移液法自动化仪器和磁棒法自动化仪器进行高通量提取实验。

安全无毒: 无需酚/氯仿等试剂。

纯度高:获得的DNA纯度高,可直接用于芯片检测、高通量测序等实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- 1. 本产品适用于手工提取或自动化仪器整合。
- 2. 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
- 3. 若裂解液GHL中有沉淀,可在37℃水浴中重新溶解,摇匀后使用。
- 4. 自备试剂:异丙醇,乙醇。如需提取组织样本,需自备1 M DTT;如需提取细菌样本,需自备1 M NaOH;如需去除RNA残留,需准备RNA酶A(100 mg/ml)溶液(客户自备,TIANGEN,目录号:RT405-12);如需提取FFPE样本,请单独购买环保脱蜡剂(客户自备,TIANGEN,目录号:RK208);如需提取大体积血液和血凝块等样本,请单独购买细胞裂解液CLA(客户自备,TIANGEN,目录号:RK216)和裂解液GHL(客户自备,TIANGEN,目录号:RK178-02)。

试剂用量表

	血液	唾液 (250 µl)	拭子 (300 µl)	干血斑	动物 组织	漱口水 /羊水等	FFPE 样本
组织消化液GHA	无	无	500 µl	200-400 µl	300 µl	300 µl	300 µl
蛋白酶K	20 µl						
裂解液GHL	300 µl						
异丙醇	300 μΙ						
磁珠悬浮液GH	15 µl						
缓冲液GDZ	900 µl/500 µl						
漂洗液PWD	900 µl/300 µl						
洗脱缓冲液TB	50-100 μl						

操作步骤

使用前请先在缓冲液GDZ和漂洗液PWD中加入无水乙醇,加入体积请参照瓶子上的标签。

A. 血液样本(抗凝血)

- 1. 取250 µl血液样品至2 ml离心管中。
- 加入20 μl蛋白酶K溶液和300 μl裂解液GHL,振荡混匀,75°C裂解15 min,期间颠倒混匀 3回,每回3-5次。

注意:当样本数目比较大时,可以把裂解液GHL和蛋白酶K预先混合,现用现配。

- 3. 加入300 µl异丙醇,振荡混匀10 sec。
- 4. 加入15 μl磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

B. 血液样本(白膜层及去血浆样本)

- 1. 取 100-200 μl血液白膜层样本(样品需平衡至室温)加入20 μl蛋白酶K溶液和350 μl裂解液GHL,颠倒混匀。
- 2. 恒温振荡金属浴上75°C, 1,500 rpm裂解15-30 min, 直至样品中无团块存在。

注意:白膜层样本及去血浆的血液样本,比较粘稠,白细胞比例较多,为了充分裂解样本,可以充分涡旋振荡混匀,并适当延长裂解时间。

- 3. 加入350 ul异丙醇,振荡混匀10 sec。
- 4. 加入15 μI磁珠悬浮液GH, 振荡混匀1 min, 共静置9 min, 每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

C. 大体积血液样本(以2 ml血液样本为例)

- 1. 将血液放置室温至完全解冻,向含2 ml血液的抽血管里加入2 ml的细胞裂解液CLA, 颠倒混匀5次, 3,600 rpm离心5 min。弃上清, 再次加入3 ml的细胞裂解液CLA, 3,600 rpm离心5 min。弃上清, 不必去干净, 细胞沉淀中留有100-200 μl的CLA溶液, 振荡至彻底混匀。
- 2. 加入20 μl蛋白酶K和350 μl裂解液GHL。恒温振荡金属浴上75°C, 1,500 rpm裂解15-30 min, 直至样品中无团块存在。
- 3. 加入350 µl异丙醇,振荡混匀10 sec。
- 4. 加入15 μI磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec,磁珠完全吸附后,小心吸去液体。

D. 血凝块样本(以2 ml血液样本为例)

- 1. 处理而凝块或含而凝块的而液:
 - a. 针对含有胶状物封存的血凝块,请先在血液没有完全化冻前,用1 ml枪头平端部分移去胶状物,尽量将胶块去除干净。
 - b. 直接向含血凝块(约2 ml)的抽血管里加入1 ml细胞裂解液CLA,使用塑料巴氏滴管或长枪头将血凝块来回吹打直至比较均匀,无大的明显血凝块。然后加入2 ml的细胞裂解液CLA,颠倒混匀5次,3,600 rpm离心10 min。
 - c. 取出抽血管, 轻轻倒出上清, 留下细胞核沉淀。
 - d. 加入3 ml细胞裂解液CLA, 颠倒混匀或在振荡器上振荡混匀,尽量分散团块。3,600 rpm离心5 min, 倒去上清, 剩余约100-200 μl的溶液体积, 涡旋振荡至团块分散混匀。
- 加入20 μl蛋白酶K和1 ml裂解液GHL, 置于75℃放置1 h至过夜, 尽量打散剩余的团块。
 3,600 rpm离心5 min, 以去除残留的杂质。
- 3. 取上清转移到2 ml离心管中,加入800 µl的异丙醇,抽打混匀或振荡混匀。
- 4. 加入15 μI磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec. 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

E. 干血斑样本

1. 样本处理: 向1.5 ml离心管中加入3-10片3×3 mm的干血斑样品,加入200-400 µl的组织消化液GHA和20 µl蛋白酶K溶液。

干血斑片数	组织消化液GHA加入量
3片	200 μΙ
5片	300 µl
10片	400 µl

2. 涡旋震荡10 sec混匀后,放入预热至75℃的恒温震荡器中,1,500 rpm恒温振荡裂解45 min。

注意: 当样本数目比较大时,可以将组织消化液GHA和蛋白酶K按比例预先混合,现用现配。

- 3. 加入300 µI裂解液GHL和300 µI异丙醇,振荡混匀。
- 4. 加入15 μl磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec,磁珠完全吸附后,小心吸去液体。

F. 组织样本

- 1. 样本处理: 取动物组织10-50 mg, 尽量剪成小块,加入300 μl组织消化液GHA和20 μl蛋白酶K. 使用电动匀浆机研磨约20 sec至组织研磨充分。
 - 1) 对于匀浆充分的样本可以省去65℃消化的时间。
 - 2) 对于有肉眼可见组织块的样本,建议65°C消化30 min至消化完全。
 - 3) 对于鼠尾样本,56℃消化过夜。
 - 4) 对于含毛囊的毛发和羽茎类样本,补加20 µl 1 M DTT(自备),消化60 min至过夜。

注意:样本消化完成后,如果有组织碎片,建议12,000 rpm离心1 min去除残留杂质。如果需要去除RNA,加入4 μI RNA酶A(客户自备,TIANGEN,目录号:RT405-12)室温放置10 min。

- 2. 将以上处理好的样本溶液300 µl转移至新的1.5 ml离心管中。
- 3. 加入300 µI裂解液GHL 和300 µI异丙醇,振荡混匀。
- 4. 加入15 ul磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

G. 唾液样本

- 1. 取300 µI唾液样品至2 mI离心管中。
- 加入20 μl蛋白酶K溶液和300 μl裂解液GHL,振荡混匀,75°C裂解15 min,期间颠倒混匀 3回,每回3-5次。

注意: 当样本数目比较大时,可以把裂解液GHL和蛋白酶K预先混合,最好现用现配。

- 3. 加入300 µl异丙醇,振荡混匀10 sec。
- 4. 加入15 µI磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

H. 拭子样本

- 1. 样本处理:
 - 1) 干拭子样本: 样本采集后加入500 μl组织消化液GHA和20 μl蛋白酶K, 涡旋10 sec混匀。
 - 2) 含保存液的拭子样本:保存液体积太大的直接取出300 μl至1.5 ml离心管中进行实验,保存液体积剩余较少的用组织消化液GHA补足至300 μl。加入20 μl蛋白酶K,涡旋10 sec混匀。

- 2. 75℃放置15 min,期间颠倒混匀3回,每回3-5次。取出300 μl进行后续实验。
- 3. 加入300 µI裂解液GHL 和300 µI异丙醇,振荡混匀。

注意:当样本数目比较大时,可以把裂解液GHL和异丙醇预先混合。

4. 加入15 µI磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

I. 漱口水/羊水等样本

- 1. 样本处理: 在50 ml无菌管中添加1-20 ml漱口水或羊水样品,800 rpm(~1,800×g)离心 5 min,将上清小心倒掉。
- 2. 向沉淀中添加300 μl组织消化液GHA重悬,将全部液体转移至1.5 ml离心管中。加入20 μl 蛋白酶K溶液,涡旋10 sec混匀,75°C放置15 min,期间涡旋混匀数次。
- 3. 加入300 µI裂解液GHL 和300 µI异丙醇,振荡混匀。
- 4. 加入15 µI磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

J. FFPE样本

- 1. 样本处理:
 - a. 取石蜡切片(5-10 μm厚, 1×1 cm²大小)2-8张, 放到1.5 ml无菌离心管中, 分别加入300 μl环保脱蜡剂(客户自备, TIANGEN, 目录号: RK208), 300 μl组织消化液 GHA和20 μl蛋白酶K剧烈涡旋10 sec, 75°C消化30-60 min至组织团块消失。
 - b. 置于90℃消化1 h(待控温设备升温至90℃后再放入样品)。
- 2. 取下层300 µI溶液转移至新的1.5 mI离心管中,进行后续实验。

- 3. 加入300 µI裂解液GHL 和300 µI异丙醇,振荡混匀。
- 4. 加入15 μl磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

K. 细菌样本

- 1. 样本处理: 取细菌培养液1-5 ml, 10.000 rpm(~11.500×q) 离心1 min, 弃上清。
- 2. 向菌体沉淀中加入300 µl组织消化液GHA,振荡至菌体彻底悬浮。

注意:对于较难破壁的革兰氏阳性菌,可略过第2步骤,加入溶菌酶A进行破壁处理,具体方法为:用110 μl复合酶缓冲液LY(客户自备,TIANGEN,目录号:RT401-11)彻底重悬菌体,加入50 μl溶菌酶A(客户自备,50 mg/ml,TIANGEN,目录号:RT401-11),37°C处理30 min以上。

对于痰液样本中细菌的提取处理步骤: 1)往痰液样本里按照体积比1: 1的比例,加入 1 M NaOH溶液(客户自备)液化30 min。如果痰液粘稠,可适当多加一定体积的1 M NaOH溶液。2)将离心管置于离心机中,4,700 rpm离心5 min,弃上清。3)加入300 μl 缓冲液GHA,将沉淀充分悬浮振荡,然后放到金属浴里95°C加热裂解10 min,冷却至室温。

- 3. 加入300 μl裂解液GHL和20 μl蛋白酶K,振荡至菌体彻底悬浮,75°C放置15 min以上至菌体变滑清。
- 4. 加入300 μ l异丙醇和15 μ l磁珠悬浮液GH,振荡混匀1 min,共静置9 min,每3 min振荡混匀1 min。

注意: 为了确保磁珠彻底重悬,请在使用前振荡混匀。

5. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec,磁珠完全吸附后,小心吸去液体。

以上样本进行裂解消化处理,磁珠悬浮液GH结合DNA后,继续以下的纯化和洗脱步骤:

- 6. 加入900 μl缓冲液GDZ (使用前请先检查是否已加入无水乙醇),振荡混匀2 min。
- 7. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。
- 8. 加入500 µl缓冲液GDZ, 振荡混匀2 min。
- 9. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。

- 10. 将离心管从磁力架上取下,加入900 μl漂洗液PWD (使用前请先检查是否已加入无水乙醇),振荡混匀2 min。
- 11. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。
- 12. 将离心管从磁力架上取下,加入300 μl漂洗液PWD,振荡混匀2 min。
- 13. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。
- 14. 将离心管于磁力架上, 室温晾干10-15 min。

注意:乙醇残留会抑制后续的酶反应,所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥 太长时间,以免难以洗脱DNA。

- 15. 将离心管从磁力架上取下,加入50-100 µl洗脱缓冲液TB,振荡混匀,置于56℃,孵育10 min,期间颠倒混匀3回,每回3-5次。
- 16. 将离心管放置于磁力架上静置2 min, 磁珠完全吸附后, 小心将DNA溶液转移至一个新离心管中, 并于适当条件保存。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD $_{260}$ 处有显著吸收峰,OD $_{260}$ 值为1相当于大约50 μ g/ml双链DNA、40 μ g/ml 单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9,如果洗脱时不使用洗脱缓冲液,而使用去离子水,比值会偏低,因为pH值和离子存在会影响光吸收值,但并不表示纯度低。



TIANGEN 官方微信,专业服务助力科研:

- 可视化操作指南
- 技术公开课合辑
- 全线产品查询

- 在线专家客服
- 微信直播课堂
- 最新优惠活动

坚持 "CUSTOMER FIRST"理念 秉承"质量为天,服务为根"宗旨!

TIANGEN为您提供从样本处理, 核酸纯化到下游检测的整体解决方案

科研试剂

- 样本保护与处理
- 磁珠法外泌体系列
- 基因组 DNA 提取
- 质粒提取
- 总 RNA 提取
- DNA 产物纯化 / 胶回收
- PCR 系列

- NGS 文库制备
- 表观遗传学
- RT-PCR 系列
- 荧光定量 PCR 系列
- 克隆和点突变
- DNA 分子量标准
- 蛋白表达和检测

科研解决方案

- 快速分子克隆整体解决方案
- 基因表达分析快速解决方案
- 环境微牛物解决方案
- 复杂样本 RNA 解决方案