

版本号: DP230911

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)	0.75 ml	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 (目录号: OSE-MF-01); 溶菌酶溶液 (50 mg/ml) (目录号: RT401)

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水浴中孵育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°C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1M DTT；如需提取细菌样本，需自备1M NaOH；如需去除RNA残留，需自备RNase A（100 mg/ml）溶液（TIANGEN，RT405-12）；如需提取FFPE样本，请单独购买环保脱蜡剂（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（TIANGEN，目录号：RK216）和裂解液GHL（TIANGEN，目录号：RK178-02）。

试剂用量表

	血液	唾液 (250 μ l)	拭子 (300 μ l)	干血斑	动物 组织	漱口水 /羊水等	FFPE 样本
Buffer GHA	无	无	500 μ l	200-400 μ l	300 μ l	300 μ l	300 μ l
Proteinase K	20 μ l						
Buffer GHL	300 μ l						
异丙醇	300 μ l						
磁珠悬浮液GH	15 μ l						
Buffer GDZ	900 μ l / 500 μ l						
Buffer PWD	900 μ l / 300 μ l						
Buffer TB	50-100 μ l						

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 μ l血液样品至2 ml离心管中。
2. 加入20 μ l Proteinase K溶液和300 μ l裂解液GHL，振荡混匀，75 $^{\circ}$ 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Proteinase K预先混合，现用现配。

3. 加入300 μ l异丙醇，振荡混匀10 sec。
4. 加入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。

B. 血液样本（白膜层及去血浆样本）

1. 取100-200 μ l血液白膜层样本（样品需平衡至室温）加入20 μ l Proteinase K溶液和350 μ l裂解液GHL，颠倒混匀。
2. 恒温振荡金属浴上75 $^{\circ}$ 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 μ l异丙醇，振荡混匀10 sec。
4. 加入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。

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。不必去干净，细胞沉淀中留有100-200 μ l的CLA溶液，振荡至彻底混匀。
2. 加入20 μ l Proteinase K和350 μ l裂解液GHL。恒温振荡金属浴上75 $^{\circ}$ C 1,500 rpm裂解15-30 min，直至样品中无团块存在。
3. 加入350 μ l异丙醇，振荡混匀10 sec。
4. 加入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。

D. 血凝块样本（以2 ml血液样本为例）

1. 处理血凝块或含血凝块的血液：

- 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 μ l的溶液体积，涡旋振荡至团块分散混匀。
2. 加入20 μ l Proteinase K和1 ml裂解液GHL，置于75 $^{\circ}$ C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 μ l的异丙醇，抽打混匀或振荡混匀。

4. 加入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。

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	缓冲液GHA加入量
3 片	200 μl
5片	300 μl
10 片	400 μl

2. 涡旋震荡10 sec混匀后，放入预热至75 $^{\circ}\text{C}$ 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Proteinase K按比例预先混合，现用现配。

3. 加入300 μl 裂解液GHL和300 μl 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 Proteinase K，使用电动匀浆机研磨约20 s至组织研磨充分。

- 1) 对于匀浆充分的样本可以省去65 $^{\circ}\text{C}$ 消化的时间；
- 2) 对于有肉眼可见组织块的样本，建议65 $^{\circ}\text{C}$ 消化30 min至消化完全；
- 3) 对于鼠尾样本，56 $^{\circ}\text{C}$ 消化过夜；
- 4) 对于含毛囊的毛发和羽茎类样本，补加20 μl 1M 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 μ l RNase A室温放置10 min（TIANGEN，RT405-12，自备）

2. 将以上处理好的样本溶液300 μ l转移至新的1.5 ml离心管中。
3. 加入300 μ l裂解液GHL和300 μ l异丙醇，振荡混匀。
4. 加入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。

G. 唾液样本

1. 取300 μ l唾液样品至2 ml离心管中。
2. 加入20 μ l Proteinase K溶液和300 μ l裂解液GHL，振荡混匀，75 $^{\circ}$ 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Proteinase K预先混合，最好现用现配。

3. 加入300 μ l异丙醇，振荡混匀10 sec。
4. 加入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。

H. 拭子样本

1. 样本处理：
 - 1) 干拭子样本：样本采集后加入500 μ l 组织消化液GHA和20 μ l Proteinase 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 μ l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 μ l。加入20 μ l Proteinase K，涡旋10 sec混匀，

-
- 75°C放置15 min，期间颠倒混匀3回，每回3-5次。取出300 μ l进行后续实验。
 - 加入300 μ l裂解液GHL和300 μ l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。

- 加入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。
- 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

- 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 \times g) 离心5 min，将上清小心倒掉。
- 向沉淀中添加300 μ l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 μ l Proteinase K溶液，涡旋10 sec混匀，75°C放置15 min，期间涡旋混匀数次。
- 加入300 μ l裂解液GHL和300 μ l异丙醇，振荡混匀。
- 加入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。
- 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

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

-
3. 加入300 μ l裂解液GHL和300 μ l异丙醇，振荡混匀。
 4. 加入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。

K. 细菌样本

1. 样本处理：取细菌培养液1-5 ml，10,000 rpm ($\sim 11,500\times g$) 离心1 min，弃上清。
2. 向菌体沉淀中加入300 μ l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，加入溶菌酶溶液进行破壁处理，具体方法为：加入110 μ l缓冲液 (20 mM Tris, pH 8.0; 2 mM $\text{Na}_2\text{-EDTA}$; 1.2% Triton)，和70 μ l溶菌酶溶液 (50 mg/ml，客户自备，目录号：RT401)，37 $^{\circ}\text{C}$ 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 μ l缓冲液GHA，将沉淀充分悬浮振荡，然后放到金属浴里95 $^{\circ}\text{C}$ 加热裂解10 min，冷却至室温。

3. 加入300 μ l裂解液GHL和20 μ l Proteinase K，振荡至菌体彻底悬浮，75 $^{\circ}\text{C}$ 放置15 min以上至菌体变澄清。
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 $^{\circ}\text{C}$ ，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OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 μg/ml双链DNA、40 μg/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

浓缩国际权威精华， 铸就TIANGEN优秀品质！

TIANGEN为您提供国际化标准的生物学产品和服务

- PCR、RT-PCR系列
- 核酸DNA、RNA分离纯化系列
- DNA分子量标准
- 克隆载体、感受态细胞
- 细胞生物学产品
- 蛋白分子量标准
- 蛋白质染色、检测及定量相关产品