

版本号: DP250417

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℃) 干燥条件下, 可保存15个月。若溶液产生沉淀, 可在37℃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 µl						
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 μ l血液样品至2 ml离心管中。
2. 加入20 μ l蛋白酶K溶液和300 μ l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 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蛋白酶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°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。弃上清，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蛋白酶K和350 μ l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 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蛋白酶K和1 ml裂解液GHL，置于75°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 μ l的组织消化液GHA和20 μ l蛋白酶K溶液。

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

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 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。

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 μ l组织消化液GHA和20 μ l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℃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 μ l 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 μ l 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 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蛋白酶K溶液和300 μ l裂解液GHL，振荡混匀，75℃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 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 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蛋白酶K，涡旋10 sec混匀。

2. 75°C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 µl裂解液GHL和300 µl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 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。

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 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。

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°C消化1 h (待控温设备升温至90°C后再放入样品)。

2. 取下层300 µl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A进行破壁处理，具体方法为：用110 μ l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 μ l溶菌酶A（客户自备，50 mg/ml，TIANGEN，目录号：RT401-11），37 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ 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蛋白酶K，振荡至菌体彻底悬浮，75 $^{\circ}$ 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 μ l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 μ l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 μ l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 μ l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 μ l洗脱缓冲液TB，振荡混匀，置于56 $^{\circ}$ 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 OD_{260} 处有显著吸收峰， OD_{260} 值为1相当于大约50 $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA。

OD_{260}/OD_{280} 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