

## MolPure® Magnetic Animal Tissue DNA Kit

### 磁珠法动物组织 DNA 提取试剂盒

#### 产品简介

MolPure® Magnetic Animal Tissue DNA Kit 磁珠法动物组织 DNA 提取试剂盒适用于从 5~15 mg 动物组织样品中 DNA 的提取。采用独特的磁珠和精心优化的缓冲体系，可最大限度的分离纯化高纯度 DNA。提取的组织 DNA 纯度高，质量稳定可靠，适用于各种下游应用实验，如 PCR、qPCR 等。本产品可配合自动化提取仪器使用，实现核酸的高通量提取。

#### 产品信息

货号	18391ES48/18391ES49/18391ES97
规格	48T/48T (预装版) /96T (预装版)

#### 组分信息

##### 瓶装

类别	组分编号	组分名称	18391ES48
Part I	18391-A	蛋白酶 K	1.1 mL/支×1
	18391-B	RNase A	6 mg/支×1
Part II	18391-C	RNase A 溶解液	1mL/支×1
	18391-D	裂解液	11 mL/瓶×1
	18391-E	裂解结合液	33 mL/瓶×1
	18391-F	磁珠悬浮液	1.1 mL/支×1
	18391-G	洗涤液 A	38 mL/瓶×1
	18391-H	洗涤液 B	38 mL/瓶×1
	18391-I	洗涤液 C	38 mL/瓶×1
	18391-J	洗脱液	6 mL/瓶×1

##### 预装版

类别	组分编号	组分名称	18391ES49	18391ES97
Part I	18391-A	蛋白酶 K	1.1 mL/支×1	1.1mL/支×2
	18391-B	RNase A	6 mg/支×1	6 mg/支×2
Part II	18391-C	RNase A 溶解液	1mL/支×1	1mL/支×2
	18391-D	裂解液	11 mL/瓶×1	22 mL/瓶×1
	18391-e	裂解结合板	1 板/盒	1 板/盒

18521-f	漂洗板	1 板/盒	1 板/盒
18521-g	洗涤板	1 板/盒	1 板/盒
18521-h	洗涤+磁珠板	1 板/盒	1 板/盒
18521-i	洗脱板	1 板/盒	1 板/盒
18521-j	磁棒套	1 个/盒	1 个/盒

## 储存条件

Part I，蛋白酶 K 和 RNase A，2~8°C 保存，室温运输，有效期为 1 年。

Part II，室温保存，室温运输，有效期为 1 年。

## 注意事项

1. 本试剂盒中的多种缓冲液含有胍盐，为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。并按照安全标准预防措施来处理。不要让缓冲液接触到皮肤、眼睛以及黏膜，如果确实发生，请立即用大量清水清洗并就医。
2. 如果溶液出现沉淀，需要 30°C 水浴至沉淀完全溶解后方可使用。
3. 如果裂解增强液出现沉淀，需要 60°C 水浴至沉淀完全溶解后使用。
4. 如果磁珠悬浮液冻结，请勿使用。
5. 本试剂盒中的多种缓冲液含胍盐，请勿用氧化性消毒剂如次氯酸钠进行处理，否则会释放有毒气体，须按医疗废物进行处理。
6. 洗脱时可能存在磁珠残留，吸取样本时应尽量避免吸入磁珠。

## 手动提取

### 1. 试剂准备

1.1 实验前应检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。

1.2 溶解 RNase A (10 mg/mL)：加入 0.6 mL RNase A 溶解液，溶解 RNase A 至终浓度为 10 mg/mL，颠倒混匀/轻柔涡旋让 RNase A 充分溶解，溶解后的 RNase A 须保存于 -20~8°C。

### 2. 操作步骤

2.1 称取 5~15 mg 动物组织(建议肝脏、肺或脾脏使用 10 mg 以下)于 1.5 mL 离心管中，加入 200  $\mu$ L 裂解液、20  $\mu$ L 蛋白酶 K。使用组织匀浆器充分匀浆后，加入 10  $\mu$ L RNase A 涡旋混匀，60°C 振荡温浴 30~120 min 或至样本完全消化，如恒温仪无振荡功能，可于温浴期间多次涡旋以促进裂解消化。

注意：对于难消化的组织如鼠爪、鼠尾等，依次加入 200  $\mu$ L 裂解液，20  $\mu$ L 蛋白酶 K，涡旋混匀后先室温放置消化 30 min，待组织泡软后再用组织匀浆器充分匀浆，加入 10  $\mu$ L RNase A 涡旋混匀，60°C 振荡温浴 30~120 min 或至样本完全消化，如恒温仪无振荡功能，可于温浴期间多次涡旋以促进裂解消化。如有肉眼可见的未消化组织，建议使用掌上离心机瞬时离心 30 s。

2.2 在温浴产物中加入 600  $\mu$ L 裂解结合液。(如温浴产物有未消化组织块，可将溶液转至新的 1.5 mL 离心管再进行此操作，并尽量避免吸到未消化组织块)。

2.3 加入 20  $\mu$ L 磁珠悬浮液，振荡或涡旋 5~7 min 使磁珠吸附 DNA。

2.4 转移至磁力架上进行磁分离至溶液透亮，吸弃溶液。

2.5 加入 700  $\mu$ L 洗涤液 A，涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。

2.6 加入 700  $\mu$ L 洗涤液 B，涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。

2.7 加入 700  $\mu$ L 洗涤液 C，涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。

2.8 掌上离心机瞬时离心后，转至磁力架上吸附至溶液澄清，充分吸弃所有溶液，打开管盖，空气干燥 3~5 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。切勿干燥过久，以免影响后续洗脱效果。

2.9 加入 50~100  $\mu$ L 洗脱液,高速涡旋 2~3 min 打散磁珠。

2.10 60°C温浴 5 min，然后高速涡旋 30 s。

2.11 瞬时离心收集管盖液滴至管中，转移至磁力架上进行磁分离。

2.12 把基因组 DNA 溶液转移至新的离心管中待用，如果不立即使用，请存储于-15~-25°C,长期保存请放置于-80°C。

## 自动化提取

适配翌圣 AP-96N 型全自动核酸提取纯化仪（更多型号仪器的适配，请联系技术支持）

### 1. 试剂准备

1.1 实验前应用力振荡几次预分装深孔板，避免液体残留在封口膜上。检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。

1.2 溶解 RNase A (10 mg/mL)：加入 0.6 mL RNase A 溶解液，溶解 RNase A 至终浓度为 10 mg/mL，颠倒混匀/轻柔涡旋让 RNase A 充分溶解，溶解后的 RNase A 须保存于-20~8°C。

### 2. 操作步骤

2.1 称取 5~15 mg 动物组织(建议肝脏、肺或脾脏使用 10 mg 以下)于 1.5 mL 离心管中，加入 200  $\mu$ L 裂解液、20  $\mu$ L 蛋白酶 K。使用组织匀浆器充分匀浆后，加入 10  $\mu$ L RNaseA 涡旋混匀，60°C振荡温浴 30~120 min 或至样本完全消化，如恒温仪无振荡功能，可于温浴期间多次涡旋以促进裂解消化。

注意：对于难消化的组织如鼠爪、鼠尾等，依次加入 200  $\mu$ L 裂解液，20  $\mu$ L 蛋白酶 K，涡旋混匀后先室温放置消化 30 min，待组织泡软后再用组织匀浆器充分匀浆，加入 10  $\mu$ L RNase A 涡旋混匀，60°C振荡温浴 30~120 min 或至样本完全消化，如恒温仪无振荡功能，可于温浴期间多次涡旋以促进裂解消化。如有肉眼可见的未消化组织，建议使用掌上离心机瞬时离心 30 s 后取上清上机。

2.2 把预分装板平放于桌面，轻轻拍打几下让孔壁上的液滴滴回孔中，小心去除封口膜。将各 96 孔板按顺序放入核酸提取仪器中，并放置好 96 深孔磁棒套。

1 号位：裂解结合板

2 号位：漂洗板

3 号位：洗涤板

4 号位：洗涤+磁珠板

6 号位：洗脱板

2.3 在裂解结合板孔中加入步骤 2.1 的温浴后溶液，避免吸到未消化组织块。

2.4 运行如下程序，程序结束后，将洗脱板中的洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于-20°C短期保存，-80°C长期保存。

AP-96N 通道核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工 位	4	1	2	3	4	6	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00
混合模式	M 2	M 2	M 2	M 2	M 2	M1	M 2
混合时间	00:00:30	00:15:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:05:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:03:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:00
体 积	800	900	800	800	800	100	800
温 度	--	25°C	--	--	--	70°C	--
混合模式	M 1	混合时间 10 s, 混合速度 300000					
混合模式	M 2	混合时间 10 s, 混合速度 200000					