

## 动物组织基因组 DNA 提取试剂使用说明书

**【产品名称】** 动物组织基因组 DNA 提取纯化试剂盒。

英文名称: Animal Tissue Genomic DNA Kit。

**【包装规格】** 96T/盒、100 T/盒。

**【适用范围】** 各类动物组织，组织匀浆液等。

**【原理】** 组织样本经过组织消化液处理后与裂解缓冲液混合，使得细胞破碎并将核酸释放。在裂解缓冲液中纳米磁珠颗粒通过表面修饰的功能基团能与游离的基因组 DNA 特异性的结合，形成磁珠-DNA 复合物。在外磁场力的作用下，将磁珠-DNA 复合物转移到洗涤缓冲液中，洗去多余的杂质。再在外磁场力的作用下转移到洗脱缓冲液中，将 DNA 洗脱回收。

**【组成成份】**

货号	021601	021602
试剂盒规格	100T	96T
蛋白酶 K	2mL	2mL
样品处理液 ETB	30mL	30mL
Buffer ATL	50mL	96 孔预分装试剂板 6 块
Buffer WA	66mL	
Buffer WB×2	14mL×2	
Buffer DE	10mL	
磁珠	1.5mL×2	
说明书	1	1

注：若购买的是 021601 请在使用前在 Buffer WA 中加入 40mL 的无水乙醇。在 Buffer WB 中加入 56mL 的无水乙醇。无水乙醇（分析纯）请用户自备。

**【储存及有效期】**

- 1、试剂盒可在常温保存。
- 2、试剂盒有效期为 12 个月，请在有效期内使用。

**【适用设备与仪器】**

磁性分离架或者全自动核酸提取仪。

**【样本要求】**

该试剂盒可以提取动物肌肉组织、动物内脏、鼠尾、鱼鳍等样本。

**【操作方法】**

一、若购买的是 021601 请按照如下手工操作方法进行实验（用户自备磁性分离架）。

1、组织样本前处理

- a. 动物肌肉组织，动物内脏之类的样本，烘干后研磨或直接在液氮中研磨成粉末待用。
- b. 鼠尾样本，可以剪取一定长度的鼠尾，一般大鼠 3mm，小鼠 6mm，然后再烘干研磨或者直接放在液氮中研磨成粉末待用。
- c. 鱼鳍样本，可以直接将新鲜的鱼鳍剪碎后待用，也可以将鱼鳍烘干后，剪取 4mm\*4mm 大小的鱼鳍，然后再剪碎后待用。

2、组织消化处理

- a. 称取 25-30mg 上述前处理后的组织样本到 1.5mL 无菌离心管。
- b. 加入 300  $\mu$ L 样品处理液 ETB 和 20  $\mu$ L 的蛋白酶 K，充分振荡混匀，可以用移液器吹打混匀。
- c. 将离心管放入 56 $^{\circ}$ C 的金属浴或水浴中，温浴 30min（鼠尾和鱼鳍样本可以延长至 1-2h），期间每隔 10min 上下颠倒离心管几次。
- d. （可选）温浴完成后，加 2  $\mu$ L 的 RNaseA（25mg/ml 用户自备），混匀静置 5min。请 12000-15000rpm（或 12000g-15000g），离心 5min。

a. 若购买的是 021601 请按照如下操作方法进行。

在 96 孔深孔板的第 1、7 列中各加入 500  $\mu$ L Buffer ATL 和 200  $\mu$ L 的异丙醇（用户自备），在第 2、8 列中各加入 600  $\mu$ L Buffer WA（**请确认已加无水乙醇**），在第 3、4 和 9、10 列中各加入 600  $\mu$ L Buffer WB（**请确认已加无水乙醇**），在第 5、11 列中各加入 100  $\mu$ L Buffer DE，在第 6、12 列中加入 200  $\mu$ L 纯水和 30  $\mu$ L 磁珠（注意：磁珠在加入前已经混合均匀）。

b. 若购买的是 021602 请按照如下操作方法进行。

将室温放置的 96 孔试剂板颠倒 3-5 次，有条件的用户可以在去除塑封膜前在 96 孔板离心机中短暂离心，若没有离心机也可以手甩，避免挂液。小心撕去塑封膜，确认板子的方向（磁珠在 6/12 列）。

- 4、在 96 孔板的第 1、7 列中各加入组织消化处理后的上清液。
- 5、将 96 孔板放入全自动核酸提取仪的指定位置中，装上磁棒护套。
- 6、请按以下程序进行实验。

步骤	槽位	名称	等待时间 (秒)	混合时间 (秒)	磁吸时间 (秒)	混合速度	体积 (μL)	吸附模式
1	1	Mixing	0	900	0	快速	900	关
2	6	Beads	0	10	60	快速	200	开
3	1	Binding	0	600	60	快速	900	关
4	2	Wash1	0	120	60	快速	600	关
5	3	Wash2	0	60	60	快速	600	关
6	4	Wash3	0	60	60	快速	600	关
7	5	Elution	60	300	90	慢速	100	开
8	6	Beads	0	15	0	快速	200	关

注：裂解温度设置成 90℃，裂解加热终止步骤 2，洗脱温度设置成 60℃，洗脱温度开始步骤 7。

7、仪器程序运行结束后，将第 5、11 列的 Buffer DE 转移至干净的无菌离心管子中备用，如不急需使用 DNA，可以将其放入-20℃冻存。

#### 【产品性能参考数值】

提取的 DNA OD260/OD280 比值：1.7-2.0。

#### 【产品的局限性】

样本：本试剂盒最适合提取样本量为 25-30mg。

结果解释：本试剂盒手工提取的效率可能会比仪器提取稍低，由于手工操作会有一些的误差造成的。

#### 【注意事项】

- 1、Buffer WA 和 Buffer WB 按要求加入无水乙醇（分析纯）。
- 2、如果室温过低，样品处理液 ETB 和 Buffer ATL 可能会有少许晶体析出或变浑浊，只需将其盖子拧紧放入 55℃的水浴中预热 5-10min，确认溶液澄清后再使用，对提取效果无影响。
- 3、上述的程序适用于全自动核酸提取仪，如果用户使用其他品牌的核酸提取仪，需根据实际使用的仪器性能进行调整程序。
- 4、试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜，一旦直接接触，请立即用大量清水冲洗。