

Tissue DNA Extraction CZ Kit

磁珠法组织 DNA 提取试剂盒

本产品适合于从组织样品中提取 DNA。试剂盒基于超顺磁性的磁珠纯化技术，在提取过程中根据磁珠特定条件下与核酸超高的亲和力以及条件改变时释放核酸的特性，达到快速分离纯化核酸的效果。快速分离纯化过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，尤其适用于高通量的工作站等核酸自动化提取设备。得到的 DNA 可直接用于 PCR，荧光定量，病毒检测等实验。

产品组份

产品编号	DNT603-01 (50 T)
Buffer TL	20 ml
Buffer MZT	30 ml
Buffer W1A	30 ml
Buffer W3B	30 ml
Buffer EB	10 ml
Proteinase K	1.1 ml
RNase Solution	300 μ l
MagExtract Suspension	1.1 ml

保存条件

本产品可在室温(15~25°C)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8°C。低温下，Buffer TL，Buffer MZT 及 Buffer W1A 可能会有沉淀形成，需 37°C 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- Buffer W1A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤 (KingFisher Flex 核酸提取仪)

组织样品

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 1~20mg 的组织块（若组织块用乙醇保存，需室温干燥 10 分钟挥发乙醇）。
2. 加入 250 μ l Buffer TL 及 20 μ l Proteinase K 到 1.5ml 离心管，盖上管盖，充分涡旋重悬。55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 1~2 小时使组织块充分消化。短暂离心收集消化液。（该过程中组织块应该被充分消化，溶液澄清且无可见沉淀，若有未消化完全的毛发等，转移至仪器操作时尽量避免转入，少量转入不影响实验结果）
3. 向消化液中加入 5 μ l RNase Solution，颠倒混匀，室温放置 10 分钟，消化液按第 4 步操作或跳至手工操作。

细胞样品

1. 计算细胞数量。1,000 x g 离心 5 分钟收集细胞 (< 8 x 10⁶)，小心吸弃培养液。
2. 加入 200 μ l Buffer TL 和 20 μ l Proteinase K 至样品中，涡旋 15 秒打散细胞，55 $^{\circ}$ C 振荡温浴 15~30 分钟。消化液按第 4 步操作或跳至手工操作。
若需去除 RNA，消化结束后加入 5 μ l RNase A 至样品中混匀，室温静置 10 分钟。
4. 按照下表进行试剂分装

板名称	预装试剂	使用前加入
样品板 (深孔板)	20 μ l MagExtract Suspension 500 μ l Buffer MZT	● 200~250 μ l 消化液
洗板1 (深孔板)	600 μ l Buffer W1A	使用前放入 Tip
洗板2 (深孔板)	600 μ l Buffer W1A	
洗板3 (深孔板)	600 μ l 75% 乙醇	
洗板4 (深孔板)	500 μ l Buffer W3B	
洗脱板 (深/浅孔板)	80~100 μ l Buffer EB	

1. 启动 KingFisher Bindit 3.3 程序，导入 DNT603 程序。
2. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
3. 约 30 分钟后程序执行完毕。取出 DNA 样品，用封口膜封好。把 DNA

保存于-20℃。

实验步骤 (32通道核酸提取仪)

组织样品

1. 在 1.5ml 离心管中，加入 1~20mg 的组织块（若组织块用乙醇保存，需室温干燥 10 分钟挥发乙醇）。
2. 加入 250 μ l Buffer TL 及 20 μ l Proteinase K 到 1.5ml 离心管，盖上管盖，充分涡旋重悬。55℃ 振荡温浴 1~2 小时使组织块充分消化。短暂离心收集消化液。（该过程中组织块应该被充分消化，溶液澄清且无可见沉淀，若有未消化完全的毛发等，转移至仪器操作时尽量避免转入，少量转入不影响实验结果）
3. 向消化液中加入 5ul RNase Solution，颠倒混匀，室温放置 10 分钟，消化液按第 4 步操作或跳至手工操作。

细胞样品

1. 计算细胞数量。1,000 x g 离心 5 分钟收集细胞 ($< 8 \times 10^6$)，小心吸弃培养液。
2. 加入 200 μ l Buffer TL 和 20 μ l Proteinase K 至样品中，涡旋 15 秒打散细胞，55℃ 振荡温浴 15~30 分钟。消化液按第 4 步操作或跳至手工操作。
若需去除 RNA，消化结束后加入 5 μ l RNase A 至样品中混匀，室温静置 10 分钟。
4. 按照下表进行试剂分装

孔位	预装试剂	使用前加入
第1/7列孔	20 μ l MagExtract Suspension 500 μ l Buffer MZT	● 200~250ul消化液
第2/8列孔	600 μ l Buffer W1A	
第3/9列孔	600 μ l Buffer W1A	
第4/10列孔	600 μ l 75% 乙醇	
第5/11列孔	500 μ l Buffer W3B	
第6/12列孔	80~100 μ l Buffer EB	

5. 程序设置:

孔位	等待时间	混合时间	混合速度	吸磁次数	体积	温度
1	0	10 min	中速	2 次	600ul	55 度
2	0	2 min	中速	2 次	600ul	关闭
3	0	1 min	中速	2 次	600ul	关闭
4	0	1 min	中速	1 次	600ul	关闭

5	0	0 min	中速	1 次	500ul	关闭
6	0	10 min	中速	5 次	80ul	55 度
4	0	1 min	中速	0 次	600ul	关闭

1. 执行程序，按提示将装有样品或试剂的 96 孔板放到仪器对应的槽中。
2. 约 30 分钟后程序执行完毕。取出 DNA 样品，用封口膜封好。把 DNA 保存于 -20 ℃。

实验步骤（手工操作）

该方案适合于从组织/细胞样品中提取 DNA。

1. 13,000 x g 离心 1 分钟，转移消化液至新的离心管中。
2. 加入 20ul MagExtract Suspension 及 500ul Buffer MZT，充分涡旋混匀。室温放置 5 分钟，期间颠倒混匀数次。
3. 将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
4. 将离心管从磁力架取下，加入 600ul Buffer W1A，涡旋混匀 1 分钟。将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
5. 重复第 4 步一次。（可选）
6. 将离心管从磁力架取下，加入 600ul 70%乙醇，涡旋混匀 1 分钟。将离心管放置于磁力架静置 30 秒，磁珠完全吸附后，小心吸弃液体。
7. 重复第 6 步一次。
8. 短暂离心，将离心管放置于磁力架上静置 10 秒，吸尽残液。（此步骤不可省略，过多乙醇残留会导致后续实验抑制）
9. 将离心管放于磁力架上，打开盖子，室温晾干 10 分钟。（干燥时间过长会导致洗脱困难）
10. 将离心管取下，加入 100ul Buffer EB，涡旋混匀，55℃振荡温浴 6 分钟，若无振荡温浴，期间涡旋混匀 3~4 次。
11. 将离心管放于磁力架上，静置吸磁 2 分钟，转移 DNA 溶液至新的离心管保存于 -80℃。