

M5 QuickMag Animal Tissue DNA Kit

磁珠法动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 QuickMag Animal Tissue DNA Kit	50T	MF483-01

【储存条件】

试剂盒中除 QuickMag Particles 和 Proteinase K 外，可在室温(15-25℃)干燥保存 12 个月。
Buffer MDA 和 Buffer GH1 可能会有沉淀形成，使用前请在 60℃ 水浴中重新溶解，摇匀后使用。
QuickMag Particles 和 Proteinase K 在室温下运输，收到后请保存于 2-8℃。

【产品简介】

QuickMag Animal Tissue DNA Kit 基于磁珠分离纯化方式，适合于从动物组织样品中纯化高质量核酸，提取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，整个提取过程 60 分钟内即可完成。该试剂盒可整合磁棒法或移液法自动核酸提取仪进行高通量提取实验，也可使用磁力分离架进行手工操作。

QuickMag 纯化系统以超顺磁性的纳米磁性粒子为基质，这种磁性粒子在高浓度离液剂的条件下可通过氢键和静电特异的吸附核酸，而蛋白质或其它非特异吸附的少量杂质经洗涤被去除，最后用低盐缓冲液或 RNase-Free ddH₂O 洗脱核酸。纯化的核酸可适用于各种常规操作，包括 PCR、荧光定量 PCR 和病毒检测等各种下游实验。

【产品组份】

Buffer MDA	12 ml
Buffer GH1	20 ml
Buffer MW1	100 ml (已经预先加入无水乙醇，客户直接用)
Buffer MW2	24 ml (需要客户使用前加 96ml 无水乙醇)
Buffer TB	15 ml
Proteinase K(20mg/ml)	1 ml
QuickMag Particles	0.5 ml

【提取得率】

样本		最适提取量	DNA 得率 (µg)
鼠	脑	25 mg	20-30 µg
	心脏	25 mg	20-30 µg
	肝脏	25 mg	30-50 µg
	脾脏	25 mg	50-70 µg
	肺	25 mg	50-70 µg
	肾脏	25 mg	30-50 µg
	尾	大鼠 0.3 cm 小鼠 0.6 cm	50-80 µg
其他组织类型	肌肉组织	50 mg	5-10 µg
	鱼	50 mg	5-10 µg
	虾	50 mg	5-10 µg
	贝	30 mg	30-50 µg
微量样本	口腔拭子	1	0.2-1 µg
	干血斑	3 片 3×3 mm	0.2-1 µg

【注意事项】

【操作步骤】

使用前请先在 Buffer MW2 中加入 96ml 无水乙醇，加入后请在瓶上标签做标记。

一、手工操作步骤：

1. 取动物组织 10-50 mg，尽量剪成小块，加入 200 μ l Buffer MDA 和 20 μ l Proteinase K，使用电动匀浆机研磨约 10 s 至组织研磨充分。

对于匀浆充分的样本可以省去 65 $^{\circ}$ C 消化的时间；对于有肉眼可见组织块的样本，建议 65 $^{\circ}$ C 消化 30 min 至消化完全；对于鼠尾样本，56 $^{\circ}$ C 消化过夜；

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。

注意：如果需要去除 RNA，加入 4 μ l RNase A 室温放置 10 min（自备）。

2. 加入 300 μ l Buffer GHL，振荡混匀。
3. 将离心管置于 75 $^{\circ}$ C，孵育 15 min，期间颠倒混匀 3 回，每回 3-5 次。
4. 室温放置 5 min。
5. 加入 350 μ l 异丙醇，振荡混匀 10 sec。
6. 加入 20 μ l QuickMag Particles，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。

对于口腔拭子和干血斑等基因组 DNA 含量少的样本，建议使用 10 μ l 的磁珠；

对于肌肉组织等基因组 DNA 含量中等的样本，建议使用 15 μ l 的磁珠；

对于鼠的脾脏等基因组 DNA 含量高的样本，建议使用 20 μ l 的磁珠。

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 700 μ l Buffer MW1（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
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。

注意：如果对于 DNA 纯度要求更高，可以重复步骤 8 和 9 一次。

10. 加入 700 μ l Buffer MW2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），振荡混匀 30 sec。
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. 重复步骤 10 和 11 一次。
13. 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。

14. 将离心管从磁力架上取下，加入 100-200 μ l Buffer 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。
15. 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。

二、移液法自动化仪器提取步骤

A、准备工作及注意事项：

1. 本产品可整合 Hamilton Microlab STAR、Beckman Coulter Biomek FX 和 Capitalbio LabKeeper 等移液法自动化仪器进行高通量基因组提取工作。
2. 组织样本的处理：同手工法样本处理，消化完成后转入 96 孔深孔板内。
3. 磁珠稀释液的配制：按照 20 μl QuickMag Particles 加入 80 μl 异丙醇的比例混合，混合后每个样本用量为 100 μl 。
4. 对于 Hamilton Microlab STAR 类的仪器，有放置 2 ml 离心管的板位，可以不使用异丙醇来稀释磁珠，异丙醇的加入体积仍为 350 μl 。
每个离心管可以放入 1 ml 左右的磁珠 QuickMag Particles，吸取磁珠前吹打混匀 5 次，直接进行 20 μl 磁珠的分液操作，分液完成后将磁珠管盖盖好保存。
5. 对于动物脾脏、肝脏和肾脏等 DNA 含量丰富的样本，建议裂解后加入异丙醇吹打混匀 5 次以后，再加入磁珠进行混匀，避免磁珠聚集后不易进行充分的漂洗。
6. 考虑仪器设定温度和 96 孔板内的实际温度有一定的偏差，在裂解和洗脱时建议仪器设定温度比实际使用温度高出 10 $^{\circ}\text{C}$ 。

B、提取步骤：

1. 在 96 深孔板(自备)中加入 200 μl 处理好的组织样本。
2. 每孔加入 300 μl Buffer GHL，吹吸 6 次。
3. 将深孔板置于 75 $^{\circ}\text{C}$ ，孵育 15 min，振荡混匀。
4. 将加热模块温度调至 25 $^{\circ}\text{C}$ ，继续振荡 5 min。
5. 每孔加入 270 μl 的异丙醇，吹吸 6 次，然后振荡混匀 5 min。
6. 每孔加入 100 μl 磁珠稀释液，吹吸 6 次，然后振荡混匀 10 min。
7. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
8. 将深孔板从磁力架上取下，加入 100 μl Buffer MW1，振荡混匀 2 min。然后再加入 600 μl Buffer MW1，吹吸 6 次，然后振荡混匀 2 min。
9. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
注意：如果对于 DNA 纯度要求更高，可以重复步骤 8 和 9 一次。
10. 将深孔板从磁力架上取下，加入 100 μl Buffer MW2，振荡混匀 1 min。然后加入 600 μl Buffer MW2，吹吸 6 次，然后振荡混匀 2 min。
11. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
12. 重复步骤 10 和 11 一次。
13. 将深孔板置于磁力架上，37 $^{\circ}\text{C}$ 晾干 5 min。
14. 将深孔板从磁力架上取下，加入 100-200 μl Buffer TB，置于 65 $^{\circ}\text{C}$ ，振荡混匀 10 min。
15. 将深孔板放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，小心将 DNA 溶液转移至收集板中，并于适当条件保存。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。