

YALEPIC[®] 磁珠法动物细胞/组织 DNA 提取试剂盒

YALEPIC[®] MagEVO Animal Cell & Tissue DNA Extraction Kit

产品货号: YM26003

产品保存及运输条件:

常温运输; 10-30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] MagEVO Animal Cell & Tissue DNA Extraction Kit 适用于从新鲜组织和细胞中高效便捷提取 DNA。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, 整个过程不涉及有机试剂, 提取的基因组 DNA 片段大, 纯度高, 质量稳定可靠, 能最大限度地去蛋白、无机盐等杂质, 尤其适合高通量工作站的自动化提取。纯化的 DNA 产物适用于多种应用, 包括 PCR、Real-Time PCR、宏基因组文库构建、全基因组测序分析等。

产品组分

序号	产品组分	YM26003 (96 T)
①	FT Buffer	24 ml
②	TZ Buffer	16 ml
③	Wash Buffer GC	70 ml
④	Wash Buffer GF	70 ml
⑤	Magbeads PM	3×1.3 ml
⑥	Proteinase K	2×1.1 ml
⑦	RNase A (100 mg/ml)	500 μl
⑧	YGE Buffer	12 ml

适用范围

动物组织: 10 ~ 30 mg

培养细胞: $\leq 1 \times 10^6$ 个

自备试剂及仪器

75%无水乙醇; 异丙醇; 液氮; 涡旋混匀仪或振荡破碎仪; 2/15ml 磁力架或核酸提取仪; 6孔深孔耗材及架托; 96深孔板; 磁棒套; Nuclease-free 移液器吸头; Nuclease-free 1.5 ml/2.0ml 离心管; 高速离心机; 恒温混匀仪; 恒温水浴锅等。

实验准备

1. 使用本试剂盒前做好防护措施, 穿戴实验服、手套、口罩等。使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品, 试剂使用完后立即盖好瓶盖, 交叉污染的风险。
2. 待处理样品应尽量保证新鲜, 避免冻融。
3. 使用前检查 **FT**、**TZ Buffer** 是否出现沉淀, 如有沉淀, 请置于 55°C 水浴重新溶解。
4. 请勿冻存 **Magbeads PM**, 使用前充分振荡混匀。

实验流程

● 手动操作 (配磁力架)

1. 样品处理

- 1) 动物组织: 取 25-30 mg 组织 (肝脏, 脾脏, 肾脏等组织核酸含量丰富, 请勿超过 10 mg), 在液氮中或冷冻研磨仪中磨碎, 或使用组织匀浆机打碎, 将打碎的组织转移到 2.0 ml 离心管 (自备) 中。 (注: 样本破碎需彻底, 否则会影响 DNA 的产量; 若采用匀浆的方式, 匀浆时尽量控制温度, 防止因高温导致的 DNA 降解)
- 2) 贴壁细胞: 将细胞在培养瓶中直接裂解或处理成细胞悬液, 12,000 rpm 离心 1 min 弃上清, 收集细胞沉淀于 2.0 ml 离心管 (自备) 中。
- 3) 细胞悬液: 12,000 rpm 离心 1 min, 弃上清, 收集细胞沉淀于 2.0 ml 离心管 (自备) 中。
2. 向上述管中迅速加入 220 μ l **FT Buffer**, 涡旋混匀后, 加入 20 μ l **Proteinase K**, 涡旋混匀后瞬时离心, 于恒温混匀仪 56°C, 1,000 rpm 振荡裂解 30 min, 至细胞/组织充分裂解。 (注: 消化时间取决于样本类型和匀浆效果, 细胞样本需要 30 min, 一般组织样本需要 0.5-1 h, 鼠尾、骨骼等可孵育 6-8 h 或过夜消化)
3. 12,000 rpm 离心 2 min, 吸取 200 μ l 上清至新的 2.0 ml 离心管 (自备) 中。
4. 加入 5 μ l 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液, 振荡混匀, 室温放置 10 min, 获得裂解上清液。
5. 加入 150 μ l **TZ Buffer**, 涡旋混匀后, 瞬时离心, 向离心管中加 40 μ l **Magbeads PM**, 和 280 μ l **异丙醇 (自备)**, 涡旋混匀 5~8 s, 瞬时离心后, 离心管固定于 25°C、1,200 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 10 min。 (注: **Magbeads PM** 使用前, 涡旋充分重悬)
6. 瞬时离心后, 将离心管固定于磁力架上静置 1 min, 待溶液澄清之后, 弃去溶液。
7. 向离心管中加入 650 μ l **Wash Buffer GC**, 涡旋振荡 5 s, 于 25°C、1,200 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 3 min, 瞬时离心后, 将离心管固定于磁力架上静置 1 min, 待溶液澄清之后, 弃去溶液。
8. 向离心管中加入 650 μ l **Wash Buffer GF**, 涡旋振荡 5 s, 于 25°C、1,200 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 3 min, 瞬时离心后, 将离心管固定于磁力架上静置 1 min, 待溶液澄清之后, 弃去溶液。

9. 向离心管中加入 700 μ l **75%乙醇 (自备)**，涡旋振荡 5 s，于 25°C、1,200 rpm 的恒温混匀仪上振荡结合 3 min，瞬时离心后，将离心管固定于磁力架上静置 1 min，待溶液澄清之后，弃去溶液。重复本步骤一次。
10. 瞬时离心，将其重新固定于磁力架上用移液器去除管底溶液，之后开盖室温放置 5~10 min 使乙醇充分挥发。
11. 将离心管从磁力架取下，向离心管中加入 70~100 μ l **YGE Buffer** 后涡旋振荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于 56°C、1,200 rpm 的恒温混匀仪上振荡洗脱 10 min。
12. 将离心管固定于磁力架上静置 2 min，之后将洗脱液转移至新的离心管中 -20°C 保存。

● 全自动核酸纯化仪

(根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定，以下流程以 YALEPIC® Pure 32 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明)

1. 参考手动操作步骤 1~4，获得**裂解上清液**。
2. 按下表向 96 深孔板中加入试剂：

列 数	试 剂	体 积
第 1、7 列	Wash Buffer GC	650 μ l
第 2、8 列	TZ Buffer	150 μ l
	裂解上清液	约 200 μ l
	异丙醇 (自备)	280 μ l
第 3、9 列	Wash Buffer GF	650 μ l
第 4、10 列	75%乙醇	650 μ l
	Magbeads PM	40 μ l
第 5、11 列	75%乙醇	650 μ l
第 6、12 列	YGE Buffer	70 μ l

3. 将加好样本的深孔板放入核酸提取仪中，装上磁棒套，确认磁棒套安装到位后，即可启动程序 **YM26003 Animal DNA V2.ABC**。
4. 程序结束后，取出深孔板，将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管 (自备) 中，如不立即进行下游实验，可置于 -20°C 保存。

本产品仅供研究使用，请勿用于临床诊断