Version 26.02

YALEPIC® 磁珠法动物细胞/组织 DNA/RNA 提取试剂盒

YALEPIC® MagEVO Animal Cell & Tissue DNA/RNA Extraction Kit

产品货号：YG28003

产品保存及运输条件:

常温运输；10 ~ 30℃ 室温保存。

产品概述

YALEPIC® MagEVO Animal Cell & Tissue DNA/RNA Extraction Kit 试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从细胞或者组织中提取基因组 DNA 和总 RNA 的方法。独特的缓冲体系使裂解液中的核酸高效特异地结合在磁珠上，提取的核酸纯度高，质量稳定，不含蛋白质、核酸酶和其他杂质，适用于各种分子生物学应用，包括 PCR、荧光定量 PCR 等多种实验。

产品组分

序号	产品组分	YG28003（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	3×1.3 ml
⑦	Nuclease-free ddH_2O	12 ml

适用范围

动物组织：10 ~ 30 mg

培养细胞：≤ 1×10^6 个。

自备试剂及仪器

75%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，与常规 RNA 实验操作环境一致。
2. 使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，配制溶液应使用 Nuclease-free ddH_2O，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险。
3. 本试剂盒试剂含有胍盐成分，其具有腐蚀性和刺激性，如体表不慎接触到该试剂，立即用大量清水冲洗；若情况严重需就医。
4. 本试剂盒适用于组织及细胞的提取纯化。使用新鲜样本，若不能及时提取，将样本立即置于液氮中，速冻后于 -85 ~ -65℃ 保存，并避免反复冻融。
5. 使用前检查 **FT、TZ Buffer** 是否出现沉淀，如有沉淀，请置于 55℃ 水浴重新溶解。
6. 请勿冻存 **Magbeads PM**，使用前充分振荡混匀。
7. 样本破碎需彻底，否则会影响 DNA 和 RNA 的产量。
8. RNA 易降解，建议提取后尽快进行后续实验，如暂时不使用可放置于 -85 ~ -65℃ 保存。

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 μl **FT Buffer**，涡旋混匀后，加入 40 μl **Proteinase K**，涡旋混匀后瞬时离心，于恒温混匀仪 56℃，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 μl **裂解上清液**至新的 2.0 ml 离心管（自备）中。
4. 加入 150 μl **TZ Buffer**，涡旋混匀后，瞬时离心，向离心管中加 40 μl **Magbeads PM**，和 280 μl **异丙醇（自备）**，涡旋混匀 5~8 s，瞬时离心后，离心管固定于 25℃、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）
5. 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。
6. 向离心管中加入 650 μl **Wash Buffer GC**，涡旋振荡 5 s，于 25℃、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。

7. 向离心管中加入 650 μl **Wash Buffer GF**，涡旋振荡 5 s，于 25℃、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 700 μl **75%乙醇（自备）**，涡旋振荡 5 s，于 25℃、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。
9. 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。
10. 将离心管从磁力架取下，向离心管中加入 70~100 μl **Nuclease-free ddH$_2$O** 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℃、1,200 rpm 的恒温混匀仪上振荡洗脱 10 min。
11. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，待 Magbeads 完全吸附后，用移液器将洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管（自备）中，如不立即进行下游实验，可置于 -85 ~ -65℃ 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 1~3，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 μl
第 2、8 列	TZ Buffer	150 μl
	裂解上清液	约 200 μl
	异丙醇（自备）	280 μl
第 3、9 列	Wash Buffer GF	650 μl
第 4、10 列	75%乙醇	650 μl
	Magbeads PM	40 μl
第 5、11 列	75%乙醇	650 μl
第 6、12 列	Nuclease-free ddH$_2$O	70 μl

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 **YG28003 Animal DNA RNA.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 -85 ~ -65℃ 保存。