

# MolPure® Magnetic Animal Tissue DNA Kit

## 磁珠法动物组织 DNA 提取试剂盒

### 产品简介

MolPure® Magnetic Animal Tissue DNA Kit 磁珠法动物组织 DNA 提取试剂盒适用于从 5~15 mg 动物组织样品中 DNA 的提取。采用独特的磁珠和精心优化的缓冲体系，可最大限度的分离纯化高纯度 DNA。提取的组织 DNA 纯度高，质量稳定可靠，适用于各种下游应用实验，如 PCR、qPCR 等。本产品可配合自动化提取仪器使用，实现核酸的高通量提取。

### 产品信息

货号	18391ES48/18391ES98
规格	48T/1000 T

### 组分信息

类别	组分编号	组分名称	18391ES48	18391ES98
Part I	18391-A	蛋白酶 K	1.1 mL/支×1	31 mL/支×1
	18391-B	RNase A	6 mg/支×1	6 mg/支×32
Part II	18391-C	RNase A 溶解液	1mL/支×1	1mL/支×32
	18391-D	裂解液	11 mL/瓶×1	262 mL/瓶×1
	18391-E	裂解结合液	33 mL/瓶×1	377mL/瓶×2
	18391-F	磁珠悬浮液	1.1 mL/支×1	31 mL/支×1
	18391-G	洗涤液 A	38 mL/瓶×1	446 mL/瓶×2
	18391-H	洗涤液 B	38 mL/瓶×1	446 mL/瓶×2
	18391-I	洗涤液 C	38 mL/瓶×1	446 mL/瓶×2
	18391-J	洗脱液	6 mL/瓶×1	147 /瓶×1

备注：18391ES98 Part II 组分含 2 个包装盒。

### 储存条件

Part I，蛋白酶 K 和 RNase A，2~8°C 保存，室温运输，有效期为 18 个月。

Part II，室温保存，室温运输，有效期为 18 个月。

### 注意事项

1. 本试剂盒中的多种缓冲液含有胍盐，为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。并按照安全标准预防措施来处理。不要让缓冲液接触到皮肤、眼睛以及黏膜，如果确实发生，请立即用大量清水清洗并就医。
2. 如果溶液出现沉淀，需要 30°C 水浴至沉淀完全溶解后方可使用。
3. 如果裂解增强液出现沉淀，需要 60°C 水浴至沉淀完全溶解后使用。

4. 如果磁珠悬浮液冻结，请勿使用。洗脱时可能存在磁珠残留，吸取样本时应尽量避免吸入磁珠。
5. 本试剂盒中的多种缓冲液含胍盐，请勿用氧化性消毒剂如次氯酸钠进行处理，否则会释放有毒气体，须按医疗废物进行处理。

## 使用说明

### 试剂准备

- ❖ 实验前应检查溶液是否有沉淀，磁珠是否能重悬。
- ❖ 溶解 RNase A (10 mg/mL)：加入 **0.6 mL RNase A 溶解液**，溶解 RNase A 至终浓度为 10 mg/mL，颠倒混匀/轻柔涡旋让 RNase A 充分溶解，溶解后的 RNase A 须保存于-20~8°C。

### 第一部分：样本处理

1.1 称取 5~15 mg 动物组织(建议肝脏、肺或脾脏使用 10 mg 以下)于 1.5 mL 离心管中，加入 **200 μL 裂解液**、**20 μL 蛋白酶 K**。使用组织匀浆器充分匀浆后，加入 **10 μL RNaseA** 涡旋混匀，60°C 振荡温浴 30~120 min 或至样本完全消化，如恒温仪无振荡功能，可于温浴期间多次涡旋以促进裂解消化。

注意：对于难消化的组织如鼠爪、鼠尾等，依次加入 **200 μL 裂解液**，**20 μL 蛋白酶 K**，涡旋混匀后先室温放置消化 30 min，待组织泡软后再用组织匀浆器充分匀浆，加入 10 μL RNase A 涡旋混匀，60°C 振荡温浴 30~120 min 或至样本完全消化，如恒温仪无振荡功能，可于温浴期间多次涡旋以促进裂解消化。如有肉眼可见的未消化组织，建议使用掌上离心机瞬时离心 30 s。

### 第二部分：单管操作

- 2.1 在温浴产物中加入 **600 μL 裂解结合液**。(如温浴产物有未消化组织块，可将溶液转至新的 1.5 mL 离心管再进行此操作，并尽量避免吸到未消化组织块)。
- 2.2 加入 **20 μL 磁珠悬浮液**，振荡或涡旋 5~7 min 使磁珠吸附 DNA。
- 2.3 转移至磁力架上进行磁分离至溶液透亮，吸弃溶液。
- 2.4 加入 **700 μL 洗涤液 A**，涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
- 2.5 加入 **700 μL 洗涤液 B**，涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
- 2.6 加入 **700 μL 洗涤液 C**，涡旋 10 s 打散磁珠后转至磁力架上进行磁分离至溶液澄清，吸弃溶液。
- 2.7 掌上离心机瞬时离心后，转至磁力架上吸附至溶液澄清，充分吸弃所有溶液，打开管盖，空气干燥 3~5 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。切勿干燥过久，以免影响后续洗脱效果。

- 2.8 加入 **40~100 μL 洗脱液**，高速涡旋 2~3 min 打散磁珠。
- 2.9 60°C 温浴 5 min，然后高速涡旋 30 s。
- 2.10 瞬时离心收集管盖液滴至管中，转移至磁力架上进行磁分离。
- 2.11 把基因组 DNA 溶液转移至新的离心管中待用，如果不立即使用，请存储于-15~-25°C，长期保存请放置于-80°C。

### 第三部分：搭配翌圣 AP-16S 和 AP-48 核酸提取仪操作

3.1 将瓶装试剂分装至 96 孔板 (Cat#83671ES) 对应的孔中，按如下表格分装：

列	步骤	试剂名称	投入量
1/7	结合	裂解结合液	600 μL
2/8	漂洗 1	洗涤液 A	800 μL
3/9	漂洗 2	洗涤液 B	800 μL
4/10	漂洗 3	磁珠悬浮液	20 μL (加入前充分混匀)
		洗涤液 C	800 μL
5/11	洗脱	洗脱液	40-100 μL

6/12	—	—	—
------	---	---	---

3.2 将步骤 1.1 处理好的样本裂解液加入样本处理孔（第 1、7 列）并吹打混匀 3-5 次。

3.3 按照提取仪的位置，正确安放上述 96 孔预装板，并放置 8 联磁棒套（Cat#83663ES）。根据使用的提取仪，AP-16S 和 AP-48 分别启动不同的程序。

3.4 运行如下程序，程序结束后，洗脱孔（第 5、11 列）中的溶液即为核酸溶液。溶液可置于-20℃短期保存，-80℃长期保存。

#### AP-16S 核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	4	1	2	3	4	5	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00
混合模式	M 2	M 2	M 2	M 2	M 2	M3	M 2
混合时间	00:00:30	00:15:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:05:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:03:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:00
体 积	400	900	800	800	800	100*	800
温 度	--	25℃	--	--	--	70℃	--
混合模式	M2	混合时间 10s, 混合速度 12000					
混合模式	M3	混合时间 10s, 混合速度 18000					

\*备注：第 6 步洗脱体积，可以根据实际加入的洗脱液体积设置。

#### AP-48 核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	4	1	2	3	4	5	4
等待时间	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:00:00	0:01:00	0:00:00
混合模式	M 2	M 2	M 2	M 2	M 2	M1	M 2
混合时间	0:00:30	0:15:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:05:00	0:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	0:01:00	0:03:00	0:01:00	0:01:00	0:01:00	0:03:00	0:00:00
体 积	800	900	800	800	800	100*	800
温 度	--	25℃	--	--	--	70℃	--
混合模式	M1	混合时间 10s, 混合速度 300000					
混合模式	M2	混合时间 10s, 混合速度 200000					

#### 第四部分：搭配翌圣 AP-96N 核酸提取仪操作

4.1 将瓶装试剂分装至对应的 96 孔板中（Cat#83671ES），按如下表格分装：

板位	步骤	试剂名称	投入量
板位 1	结合	裂解结合液	600 μL
板位 2	漂洗 1	洗涤液 A	800 μL
板位 3	漂洗 2	洗涤液 B	800 μL
板位 4	漂洗 3	洗涤液 C	800 μL
		磁珠悬浮液（加入前混匀）	20 μL
板位 5	—	—	—
板位 6	洗脱	洗脱液	40-100 μL

4.2 将**步骤 1.1** 处理好的样本裂解液全部加入 1 号位（裂解结合板）中，并吹打混匀 3-5 次。避免吸到未消化组织块。

4.3 将各 96 孔板按顺序放入核酸提取仪器中，并放置好 96 深孔磁棒套（Cat#83661ES）。

4.4 运行如下程序，程序结束后，将洗脱板中的洗脱液转移至新的离心管中，溶液可置于-20℃短期保存，-80℃长期保存。

#### AP-96N 通道核酸提取仪的提取程序

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步	第 7 步
工位	4	1	2	3	4	6	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:01:00	00:00:00
混合模式	M 2	M 2	M 2	M 2	M 2	M 1	M 2
混合时间	00:00:30	00:15:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:05:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:03:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:03:00	00:00:00
体 积	800	900	800	800	800	100*	800
温 度	--	25℃	--	--	--	70℃	--
混合模式	M 1	混合时间 10 s, 混合速度 300000					
混合模式	M 2	混合时间 10 s, 混合速度 200000					