

MagPure Tissue HW DNA Kit
磁珠法组织 DNA 提取试剂盒

本产品为复杂的动物组织（水生或海洋生物、低等生物）和培养细胞、脱落细胞等生物样品的高分子量 DNA 提取提供了一个简单快速的解决方案。得到的 DNA 可直接用于 PCR，芯片分析、二代测序、三代测序等实验。

产 品 组 份

产品编号	D6382-01	D6382-02	D6382-03
纯化次数	48 次	96 次	480 次
磁珠 MPG2	1.5 ml	3.0 ml	16 ml
Buffer ATL Minus	30 ml	90 ml	350 ml
Buffer SDS	1.8 ml	5 ml	20 ml
Buffer CXP	30 ml	50 ml	220 ml
RNase Solution	0.6 ml	1.1 ml	5.5 ml
Proteinase K Solution	1.6 ml	3.5 ml	17 ml
Buffer GW1	44 ml	88 ml	2 × 220 ml
Buffer GW2	20 ml	50 ml	2 × 100 ml
Buffer BW3	50 ml	90 ml	400 ml
Elution Buffer	10 ml	30 ml	120 ml

保 存 条 件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K, RNase Solution 和 MagPure Particles MPG2 保存于 -2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

货号		试剂组份与装量	D6382-TL-06	D6382-S-48
Proteinase K Solution			3.5 ml	1.8 ml
RNase Solution			1.1 ml	0.6 ml
Buffer ATL Minus			90 ml	40 ml
Buffer SDS			5 ml	1.8 ml
DA-Tip			12 个	24 个
尖底板 试剂条	1/7排孔：400µl Buffer CXP		6 块	48 条
	第2/8排孔：600µl 洗涤液MWX1			
	第3/9排孔：600µl 洗涤液GW1			
	第4/10排孔：600µl 洗涤液GW2 20µl 磁珠MPG2			
	第5/11排孔：600µl 洗涤液GW3			
	第6/12排孔：100µl 洗脱液EB			

保存条件 本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K 和 RNase Solution 保存于 -2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

准备事项

- Buffer GW1/GW2 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

第一部分：组织和细胞的小量提取

1. 根据样品类型对样品进行消化处理。
 - **动物组织**: 取 10~50mg 组织样品至玻璃匀浆器中，加入 0.6ml Buffer ATL Minus，缓慢上下挤压 5 次匀浆组织，转移 0.5ml 匀浆液至 1.5ml 离心管中，加入 30µl Proteinase K 和 30µl Buffer SDS,颠倒混匀数次，55℃ 温育 30~60 分钟或直至样品完全消化。若存在明显未消化的杂质，10,000 × g 离心 3 分钟，转移 0.5ml 上清液至新的离心管中。
 - **培养细胞 (<1 x10⁷ 个细胞)**: 取适量培养液、尿液、羊水或腹水等液体样品至离心管中，2,000 × g 离心 10 分钟收集细胞，去除上清液。加入 500µl Buffer ATL Minus，涡旋重悬细胞，加入 30µl 蛋白酶 K 和 30µl Buffer SDS，颠倒混匀数次，55℃ 温育 15~30 分钟。
2. 转移 500µl 消化液至 2.0 ml 离心管，加入 10 µl RNase Solution 混匀，室温放置 10-30 分钟。富含 RNA 有肝脏、肾脏或培养细胞，建议室温放置 30 分钟。

3. 加入 400 μ l Buffer CXP, 颠倒混匀 6~8 次, 50°C 温育 3~5 分钟让沉淀消失。
4. 加入 25 μ l 磁珠液 MPG2, 颠倒混匀 10~15 次, 室温静置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。磁力架静置 1 分钟, 倒弃或吸弃溶液, 瞬离后再吸弃残液。
5. 加入 600 μ l Buffer MWX1, 涡旋 10 秒, 磁力架静置 1 分钟, 吸弃溶液。
6. 加入 600 μ l Buffer GW1, 涡旋 10 秒, 磁力架静置 1 分钟, 吸弃溶液。
7. 加入 600 μ l Buffer GW2, 涡旋 10 秒, 磁力架静置 1 分钟, 吸弃溶液。
8. 加入 600 μ l Buffer GW2, 涡旋 10 秒, 磁力架静置 1 分钟, 吸弃溶液。
9. 不要从磁力架上取下样品, 加入 750 μ l Buffer GW3, 不要打散磁珠静置 60 秒, 吸弃溶液。
10. 加入 100~150 μ l Elution Buffer 至样品中, 轻轻拍打让磁珠从壁上脱落并重悬在 Elution Buffer 中, 55°C, 600~800rpm 振荡温育 10 分钟让 DNA 充分溶解。转移至磁力架上吸附 2 分钟, 把 DNA 转移至新的离心管中。

第二部分. 中 量 提 取

1. 根据样品类型, 对样品进行消化处理。
 - 动物组织: 取 50~120mg 组织样品至玻璃匀浆器中, 加入 1.2ml Buffer ATL Minus, 缓慢上下挤压 5 次匀浆组织, 转移 1.0ml 匀浆液至 2.0ml 离心管中, 加入 60 μ l Proteinase K 和 60 μ l Buffer SDS, 颠倒混匀数次, 55°C 温育 30~60 分钟或直至样品完全消化, 若存在明显未消化的杂质, 10,000 $\times$ g 离心 3 分钟, 转移上清液至新的离心管中。
 - 培养细胞(<1 $\times$ 10⁸ 个细胞): 取适量培养液、尿液、羊水或腹水等液体样品至离心管中, 2,000 $\times$ g 离心 10 分钟收集细胞, 去除上清液。加入 1000 μ l Buffer ATL Minus, 涡旋重悬细胞, 加入 60 μ l 蛋白酶 K 和 60 μ l Buffer SDS, 颠倒混匀数次, 55°C 温育 15~30 分钟。
2. 转移 1000 μ l 消化液至 5 ml 离心管, 加入 20 μ l RNase Solution 混匀, 室温放置 10-30 分钟。富含 RNA 有肝脏、肾脏或培养细胞, 建议室温放置 30 分钟。
3. 加入 800 μ l Buffer CXP, 颠倒混匀 6~8 次, 50°C 温育 3~5 分钟让沉淀消失。
4. 加入 50 μ l 磁珠液 MPG2, 颠倒混匀 10~15 次, 室温静置 5 分钟, 其间颠倒混匀数次。磁力架静置 1~2 分钟, 倒弃或吸弃溶液, 瞬离后再吸弃残液。
5. 加入 1200 μ l Buffer MWX1, 涡旋 10 秒, 磁力架静置 1 分钟, 吸弃溶液。

- 6. 加入 1200µl Buffer GW1，涡旋 10 秒，磁力架静置 1 分钟，吸弃溶液。
- 7. 加入 1200µl Buffer GW2，涡旋 10 秒，磁力架静置 1 分钟，吸弃溶液。
- 8. 加入 1200µl Buffer GW2，涡旋 10 秒，磁力架静置 1 分钟，吸弃溶液。
- 9. 不要取下样品，加入 1200µl Buffer BVV3，不要打散磁珠静置 60 秒，吸弃溶液。
- 10. 加入 100~300µl Elution Buffer，轻轻拍打让磁珠从壁上脱落并重悬，55° C, 600~800rpm 振荡温育 10 分钟让 DNA 充分溶解。磁力架上吸附 2 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第三部分.32/48 通道核酸提取仪操作

- 1. 瓶装试剂：按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板对应的孔中。
预分装试剂：振荡 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。
- 2. 在第 1/7 排孔中，加入 500µl 消化液(第一步部分)，把磁力外套插到仪器中。把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。
- 3. 启动程序，约 30 分钟，结束提取。取出 96 孔板和磁力外套。
- 4. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~8℃。

MagMix 32/MagMix 48 仪器的参数

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	混匀	1	900	120s	6	0	0	0	0	0	自动	1	50
2	清洗	2	750	10s	7	0	0	0	0	0	自动	1	50
3	吸磁	4	750	20s	7	0	0	90s	0	0	自动	1	50
4	结合	1	900	250s	7	0	0	120s	0	0	自动	/	/
5	清洗1	2	750	90s	7	0	0	90s	0	0	自动	/	/
6	清洗2	3	750	90s	7	0	0	90s	0	0	自动	/	/
7	清洗3	4	750	60s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
8	清洗4	5	750	0	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
9	洗脱1	6	100	180s	7	0	0	0	0	0	自动	6	55
10	洗脱2	6	100	300s	6	0	0	90s	0	40	自动	6	55
11	弃磁	3	500	30s	8	0	0	0	0	0	自动	/	/