



Magbead Tissue DNA Kit

磁珠法新鲜组织DNA提取试剂盒

目录号： CW2516S（96 preps）

保存条件： 室温（15-30℃）

产品内容

Component	CW2516S 96 preps
Buffer GTL	30 mL
Buffer GL	30 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer GW2 (concentrate)	50 mL
Buffer EB	30 mL
Proteinase K	2×1.25 mL
RNase A (100 mg/mL)	0.3mL
Magbeads PN	1mL

产品简介

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的从新鲜组织中提取DNA的方法。组织裂解后，DNA结合于硅基包被磁珠表面。漂洗后，高纯度的DNA洗脱于EB或去离子水中。经过纯化的DNA可以直接用于PCR、Real-time PCR、SNP基因分型、STR基因分型、二代测序和药物基因组学研究等。

自备仪器、试剂

1. 康为CWE2100全自动核酸提取仪
2. 无水乙醇、异丙醇（北京化工厂）
3. 96 DW Plate（货号：CW2523）、8 channel Comb（货号：CW2524）

实验前准备及重要注意事项

1. 第一次使用前应按试剂瓶标签说明先在Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇。
2. 使用前请检查Buffer GTL和 Buffer GL是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer GTL和Buffer GL于56℃水浴重新溶解。
3. 如果下游实验对RNA污染比较敏感，可以在加入Buffer GL前加入2 μL DNase-Free的RNase A（100 mg/mL），试剂盒中的RNase A如果长时间不用，建议-20℃保存。
4. 实验开始前将水浴锅或恒温混匀仪预热至56℃。
5. Magbeads PN严禁冰冻和高速离心，否则可能会对Magbeads PN造成不可逆的损害。Magbeads PN每次使用时请充分振荡混合均匀。

操作步骤（手动）

1. 称取20-30 mg组织，将组织在液氮中磨碎或使用组织匀浆机打碎，将打碎的组织转移到1.5 mL 离心管中。
2. 向上述管中加入180 μL Buffer GTL和20 μL Proteinase K之后将离心管固定于56℃、1200 rpm恒温混匀仪上震荡裂解1小时或56℃水浴过夜至固体组织充分裂解，即为Lysate。

3. 可选步骤，如果少量RNA的存在会对下游实验造成影响，建议向Lysate中加入2 μ L浓度为100 mg/mL的RNase A溶液，震荡混匀，室温放置2 min。
4. 向Lysate中加入200 μ L Buffer GL，涡旋振荡混匀。
5. 向离心管中加入200 μ L 异丙醇与10 μ L Magbeads PN后涡旋震荡混匀5秒钟，之后将离心管固定于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合10分钟。
6. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
7. 向离心管中加入750 μ L Buffer GW1（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。
8. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
9. 重复步骤7-8。
10. 向离心管中加入750 μ L Buffer GW2（使用前请检查是否已加入无水乙醇），涡旋震荡5秒钟后放于25 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡结合2分钟。
11. 将离心管固定于磁力架上静置1分钟，之后弃去溶液。
12. 重复步骤10-11。
13. 离心管短暂离心后，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分钟使乙醇充分挥发。
14. 向离心管中加入50-200 μ L Buffer EB后涡旋震荡使磁珠充分悬浮于洗脱液中，之后将离心管固定于56 $^{\circ}$ C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡洗脱10分钟。
15. 将离心管固定于磁力架上静置2分钟，之后将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}$ C保存备用。

操作步骤（与CWE2100匹配）

1. 称取20-30 mg组织，将组织在液氮中磨碎或使用组织匀浆机打碎，将打碎的组织转移到1.5 mL离心管中。
2. 向上述管中加入180 μ L Buffer GTL和20 μ L Proteinase K之后将离心管固定于56 $^{\circ}$ C、1200 rpm恒温混匀仪上震荡裂解1小时或56 $^{\circ}$ C水浴过夜至固体组织充分裂解，即为Lysate。
3. 可选步骤，如果少量RNA的存在会对下游实验造成影响，建议向Lysate中加入2 μ L浓度为100 mg/mL的RNase A溶液，震荡混匀，室温放置2 min。
4. 向Lysate中加入200 μ L Buffer GL，涡旋振荡20 s，此刻离心管中液体即为Mixture。

5. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂:

位置	试剂及用量
1&7 Colume	Mixture : all
	Magbeads PN: 10 μ L
	异丙醇: 200 μ L
2&8 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
3&9 Colume	Buffer GW1: 750 μ L
4&10 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
5&11 Colume	Buffer GW2: 750 μ L
6&12 Colume	Buffer EB: 100 μ L

注意:

在1&7列中, 可先将异丙醇与Magbeads PN按比例混匀后再加入。

6. 将磁套与96 DW深孔板放入CWE2100中, 运行“FFPE/Tissue DNA程序”。
7. 约32分钟后程序运行结束, 将96DW深孔板和磁套从仪器中取出, 把“6&12 Colume”中的洗脱产物转移至离心管中-20℃保存备用。