

纳米磁珠法动物 DNA 提取

以下试剂、器皿需操作者提前准备:

- ❖ 无水乙醇, 分析纯异丙醇 (IPA), RNaseA
- ❖ 1-1000 ul 移液枪及枪头, 1.5 ml 离心管, 磁力架, 旋涡混合器, 高速离心机, 自动提取仪, 研磨棒
- ❖ 如发现 AD11 试剂有些浑浊, 在 37-70 °C 水浴中加热几分钟溶解即可

手动提取

1) Lysis Cell and Remove RNA & Protein

细胞: 取约 100万的动物细胞到 1.5ml 无菌离心管
加 600ul 50°C 预热的 AD11 到上步离心管, 用 AD11 的枪头充分混匀, 然后到下面的 60°C 裂解步骤。

组织: 加 200ul AD11 到 1.5ml 无菌离心管, 取约 30mg 的动物组织, 可撕碎后放到 1.5ml 无菌离心管
用尖头细玻璃棒充分研磨 (关系到DNA得率)
加 400ul 60°C AD11 到上步离心管, 轻轻混匀10秒钟

60°C 裂解: 60°C水浴 5min x2, 每5分钟 混合10秒钟
加 5-10 μl RNaseA 混匀, 37°C 5-10min, 期间间断混匀

2) Bind DNA to Nano Beads (NB)

加 100ul AD22 和 100ul 无水乙醇, 轻轻混匀10秒钟, 室温放置 5min
13K rpm, 3分钟

取约 700 ul 上清液体到新的 1.5ml 离心管中
加 420 ul IPA, 20ul 刚混匀的 NB 磁珠 到上步的离心管, 颠倒混匀10次
室温 5 min 期间间断混匀

把上步的离心管放到磁力架上 3 min, 弃上清

3) Purify DNA

加 500 ul WB22 到上步的离心管, 振荡打散10秒钟
放在磁力架上 1 min, 弃上清

重复上述 WB22 洗涤一次后, 可以短暂离心5秒, 弃上清并风干 1-5min

4) Release DNA

加 100 ul EB 到上步的离心管, 振荡打散10秒钟
室温 5 min x 2, 每5分钟, 振荡打散10秒钟
放到磁力架上 5分钟

把上清液转到没有 DNase 的干净离心管里 (注意不要取到磁珠)

测试 DNA 样品吸光度, 每个胶孔加 3-10ul DNA 溶液, 跑 1% 胶。DNA 保存在 -20°C 或 -80°C

自动化提取

加 600ul 裂解液到 Charme 仪器的列 2:

列2	列3	列4	列5	列6
600μl 上清液	180μl 水	500μl	500μl	200μl
360μl IPA	20μl NB	WB2	WB2	EB

纳米磁珠法动物 DNA 提取

步骤	列位	等待时间 min	混合时间 min	磁吸时间 sec	混合速度	体积 μl	温度 $^{\circ}\text{C}$
取磁珠	3	0	1	60	快	200	-
结合	2	0	5	120	慢	960	-
洗涤1	4	0	2	60	快	500	-
洗涤2	5	0	1	60	快	500	-
洗脱	6	2	5	60	快	200	65 $^{\circ}\text{C}$
弃磁珠	3	0	1	0	快	200	-

如果您有其他问题，请及时联系客服！