

# DNA/RNA 萃取试剂盒

## 说明书

#### 厂商:

瑞基海洋生物科技股份有限公司

电话: 886-4-2463-9869 邮箱: sales@genereach.com

地址: 407 台湾台中中部科学园区科园二路 19 号

网址: www.tacomag.com

## 目录

标识	1
试剂盒组分	2
A. 试剂	2
B.样品盘 & 套管 (一次性)	3
存储	3
需自备材料及设备	4
简述	5
预期用途	5
注意事项	6
核酸萃取步骤	7
A. <b>taco<sup>TM</sup></b> 标签的使用	7
B. 操作程序	8
产品局限	. 12
故障排除	. 13
附录 I	. 17
样本制备	. 17

### taco<sup>TM</sup> DNA/RNA 萃取试剂

附录	II	18
A.	核酸的储存	18
В.	核酸的定量	18
C.	核酸的纯度	19

## 标识



生产日期



厂商

LOT

批号

REF

产品编码



请勿重复使用

## 试剂盒组分

### A. 试剂

taco <sup>TM</sup> DNA/RNA	萃取试剂	
产品编码: atc-d/rna		
反应数: 320		
试剂名称	体积	数量
磁珠液	18 ml	1 瓶
裂解液	180 ml	1 瓶
清洗液 A <sup>1</sup>	135 ml	2 瓶
清洗液 B <sup>2</sup>	40 ml	2 瓶
洗脱液	55 ml	1 瓶
说明书		1 份

<sup>\*</sup>试剂可能有刺激性

- <sup>1</sup> 清洗液 A 在使用之前需加 135 ml 95% 的乙醇。 加完乙醇之后要作上标记。
- 2 清洗液 B 在使用之前需加 230ml 95% 的乙醇. 加完乙醇之后要作上标记。

## B. 样品盘 & 套管 (一次性)

产品名称	数量 (pcs)	产品编码
96 孔萃取样品盘	20	
混合套管	40	atcp
taco <sup>TM</sup> 标签	1	

<sup>\*</sup>样品盘和套管请勿重复使用

## 储存

所有的试剂应该室温保存,置于阴凉干燥处。

试剂和各种组分的有效期都标在项目的标签上,请勿使用任何 过期的试剂。使用之前请检查产品的有效期,因为它会影响结果 的精确性。

## 需自备材料及设备

- taco<sup>TM</sup> 自动核酸萃取系统 (taco<sup>TM</sup>)
- 一步式移液管 (选配)
- 一次性手套
- 离心管
- 移液枪和枪头 (p1000, p200)
- 95% 乙醇
- 磷酸盐缓冲液 (PBS)

## 简述

taco<sup>TM</sup> DNA/RNA 萃取试剂适用于 taco<sup>TM</sup> 自动核酸萃取系统. 基于磁珠分离技术,均质的样品细胞被裂解,再通过包覆二氧化 硅的磁珠来吸附核酸。然后利用清洗液去除杂质,利用洗脱液将 核酸从磁珠上洗脱下来,接着是一系列的清洗步骤。此试剂可萃 取虾肌肉组织中的病毒 DNA 和 RNA,其他的样本类型必须经过 使用者的验证。

注: 仅供科研使用:

本试剂不能用于任何动物或人的治疗或诊断。

## 预期用途

**taco<sup>TM</sup>** DNA/RNA 萃取试剂用来萃取诸如虾肌肉组织等各种样本中的病毒 DNA/RNA。**taco<sup>TM</sup>** DNA/RNA 萃取试剂仅适用于**taco<sup>TM</sup>** 自动核酸萃取系统。

本产品仅供专业人员使用,例如熟悉分子生物技术的训练有素的实验员。

## 注意事项

- 拿到试剂之后,请检查试剂组分是否有损坏。若有损坏,请 联系瑞基海洋生物科技股份有限公司或当地经销商。请不要 使用已损坏的试剂,以免对实验结果的准确性造成影响。
- 枪头请一次性使用,重复使用会导致交叉污染。
- 处理化学药品时,请穿戴实验服,佩戴一次性手套及护目镜。
- 若手套已污染,请丢弃。
- 不同批次的组分请勿混合使用。
- 避免试剂遭受微生物污染。
- 为了使感染的风险最小化,我们建议在生物安全操作台下操作,直至样本溶解。
- 本试剂只供专业人员使用。
- 废物处置请遵守当地法律。

## 核酸萃取试剂操作步骤

#### taco<sup>TM</sup> 标签的使用

方便起见,您可以将 **taco**<sup>TM</sup> 标签贴在试剂瓶顶上和 96 孔萃取 反应盘的边缘,以避免人为的失误。

#### a. taco<sup>TM</sup> 标签

● 反应盘标签: 将标签贴在 96 孔萃取反应盘的边缘。



 试剂瓶标签: 将标签贴在试剂瓶顶上。



#### b. 缩写定义

LB	裂解缓冲液(Lysis Buffer)	
M	磁珠(Magnetic Bead)	
WA	清洗液 A(Washing Buffer A)	
WAM	清洗液 A+磁珠(Washing Buffer A+	
	Magnetic Bead)	
WB	清洗液 B(Washing Buffer B)	
E	洗脱液(Eluting Buffer)	

#### B. 步骤

a. 根据表 1 在室温下往 96 孔萃取反应盘添加试剂。

Table 1. 加载试剂

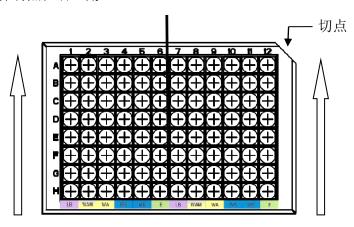
Step	试剂	
1	添加200 μl 95%酒精 和500 μl <b>裂解液</b> 到列#1 (#7)	
2	添加750 μl 清洗液 A¹到列#2 (#8)	
3	添加 750 µ 清洗液 A 到列#3 (#9)	
4	添加 750 µl 清洗液 B <sup>2</sup> 到列#4 (#10)	
5	添加 750 µl 清洗液B 到 列 #5 (#11)	
6	添加 <b>50 μl 洗脱液</b> 到 <b>列#6</b> (#12)	
7	添加 <b>50 μl 磁珠液</b> 到 <b>列#2</b> (#8)	

¹清洗液 A 在第一次使用前需加入 135ml 95% 乙醇。

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>清洗液 B 在第一次使用前需加入 230ml 95%乙醇。

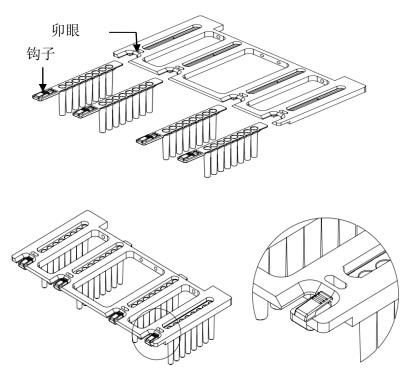
<sup>3</sup> 磁珠液在制备前需重悬。

- **b.** 将**组织**(40mg)置于 1.5ml 离心管中,加入 **450 ul PBS 缓冲液**研磨,之后 12000 rpm 离心 5 min 以沉淀残渣。(针对用酒精保存的样本,请参阅"样本制备",附录 I)
- c. 将 200 山 上清液转移到 96 孔萃取反应盘的列#1 (#7)
- **d.** 开启 **taco**<sup>TM</sup> 的进样门并安装已添加了试剂和样本的 96 孔 萃取反应盘。将 96 孔萃取反应盘完全推入托盘的底部,确保切点在右上角。



e. 安装搅拌套管,抬起搅拌套管的钩子,扣住卯眼 (见以下示意图).

#### taco<sup>TM</sup> DNA/RNA 萃取试剂



- **f.** 按下 **taco**<sup>TM</sup> 的"**Door**"按钮,关闭进样门,然后按下"Start" 按钮。
- g. 萃取完成后,第一时间丢弃搅拌套管。
- h. 取出 96 孔萃取反应盘,接着按下"Reset"按钮。
- i. 将核酸从列#6 或#12 转移到新的离心管以供进一步使用。 (见"核酸的纯度", 附录Ⅱ)

#### taco<sup>TM</sup> DNA/RNA 萃取试剂

- j. 强烈建议使用新鲜提取的核酸来作为下游的应用,例如核酸扩增。若要长期储存核酸,则必须保存在-80℃。(见"核酸的储存",附录 II).
- \*请勿重复使用萃取反应盘和套管。

注: 任何偏离说明书的操作都可能降低核酸萃取的回收率。

## 产品局限

通过分离被感染的虾肌肉中的病毒核酸,验证了系统性能。如果要利用  $taco^{TM}$  DNA/RNA 萃取试剂来萃取其他特殊样本,使用者必须进行验证。

本试剂和塑料部件不能用于任何动物或人的治疗或诊断。

## 故障排除

#### 解释与建议

#### DNA/RNA 低产出率

悬

(a) 磁珠液没有充分重 程序启动前确保磁珠液充分重悬。首 次使用前涡旋震动至少5秒,随后使 用之前应该轻微搅动。

添加酒精

(b) 清洗液 A 和 B 没有 确保清洗液 A 和 B 加入了准确量的 酒精:密封试剂瓶以防酒精蒸发。当 清洗液 A 和清洗液 B 没有加入酒精 时, 需利用正确的试剂重复萃取的过 程。 (正确的萃取步骤, 见"步骤").

#### 解释与建议

(c) 试剂添加顺序错误 换一个新的 96 孔萃取反应盘重新添加试剂。确保试剂添加在正确的孔位,换取新的样本重复萃取过程。

- (d) 样本质量差 建议采用新鲜样本,低质量的样本会 影响结果。
- (e) 错误的样品体积 错误的样品体积会影响本试剂的效 能,在处理不同样本时,使用者应该 优化样本量。
- (f) 没有安装搅拌套管 联系瑞基海洋生物科技股份有限公司或当地经销商以获得帮助
- (g) 不合适的操作环境 操作温度会影响回收率,请确保操作 温度在室温以下(16-30°C)

#### 解释与建议

设备

(h) 使用非推荐的萃取 使用非推荐的萃取设备会影响试剂 的效能,强烈建议使用 taco<sup>TM</sup> 萃取 系统。

#### 下游应用时 DNA/RNA 的效能低

(a) 萃取后 DNA/RNA 的 使用 100 µl 的洗脱液重新萃取新 体积量小 的样本。

(b) DNA/RNA 含量不 足

利用分光光度计测定 DNA/RNA 在 260nm 处的吸光度,从而进行定量。 (见"核酸的定量",附录Ⅱ)

(c) DNA/RNA 含量过 高

过量的 DNA/RNA 会抑制一些酶 的反应。利用分光光度计测定 DNA/RNA 在 260nm 处的吸光度, 从而进行定量。(见"核酸的定量", 附录 Ⅱ )

#### 解释与建议

### A260/A280 比率低

(a) 260nm 和 280nm 处 的吸光值没有减去 320nm 处的吸光值 为了纠正洗脱液中残余磁珠的影响,260nm和 280nm 处的吸光值需减去 320nm 处的吸光值。

#### 附录I

#### 样品制备

- 动物组织:酒精保存的虾肌肉组织
  - i. 在 1.5ml 离心管中加入组织 (20mg) 和 500µl 裂解液,用一次性研磨棒进行研磨。
  - ii. 12000 rpm 离心 5 分钟, 沉淀残渣。
  - iii. 转移 400 μl 上清液到 96 孔萃取反应盘的列#1 (#7), 再加入 200 μl 95% 酒精。
  - iv. 按表一的第2步到第7步添加试剂。
- \* 以上建议的样本制备方法适用于富含蛋白质的一般虾类组织; 其他样本类型需使用者进行验证。

#### 附录II

#### A. 核酸的保存

萃取后的核酸需保存在-80℃环境中。

#### B. 核酸的定量

核酸的浓度由分光光度计在 260nm 处的吸光度来确定。

使用洗脱液作为空白品来校正分光光度计。如果纯化的核酸在 定量前需要稀释,那么洗脱液也应该稀释,并且相同的稀释系数 必须应用到计算当中。

收集核酸在 260nm 和 280nm 处的吸光值,吸光值应该在 0.1 到 1.0 之间。每单位的 260nm 吸光值代表 50 μg/ml 的核酸, 260nm 和 280nm 吸光值的比值近似为核酸的纯度。(见"核酸的纯度")

磁珠因素的移除可能会影响  $A_{260}$  的读值,但是不会影响后续 核酸应用的效能。

- \*核酸样品的浓度
  - $= 50 \mu g / ml \times (A_{260} A_{320}) \times$  稀释系数
- \* 核酸总量
  - = 浓度 x 样品体积 (ml)

#### C. 核酸的纯度

纯度由修正后的  $A_{260}$  和  $A_{280}$  的比值决定,即  $(A_{260}$ - $A_{320})$  /  $(A_{280}$ - $A_{320})$ 。扣除  $A_{320}$  是为了消除洗脱液中残留磁珠的影响。若比值在 1.6 到 2.0 之间,则表明核酸纯度比较高。

©2010 GeneReach Biotechnology Corporation. All rights reserved. 仅供科研使用。不适用于任何人或动物的诊断或治疗。