



仅供科研使用

全 DNA 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
存储和运输.....	3
需自备材料及设备.....	3
简述.....	4
预期用途.....	4
注意事项.....	5
核酸萃取步骤.....	6
A. taco™ 标签的使用.....	6
B. 操作程序.....	7
产品局限.....	11
故障排除.....	12
附录 I.....	15
A. 样本制备.....	15

B. 白细胞层的制备.....	15
附录 II.....	16
A. DNA 的储存.....	16
B. DNA 的定量.....	16
C. DNA 的纯度.....	17

标识



生产日期



厂商



批号



产品编码



请勿重复使用

试剂盒组分

A. 试剂

taco™ 全 DNA 萃取试剂 产品编码: atc-dna 反应数: 320		
试剂名称	体积	数量
磁珠液	20 ml	1 瓶
裂解液	180 ml	1 瓶
清洗液 A	270 ml	2 瓶
清洗液 B ¹	40 ml	2 瓶
洗脱液	55 ml	1 瓶
说明书		1 份

*试剂可能有刺激性

¹ 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	atcp
搅拌套管	40	
taco™ 标签	1	

*样品盘和套管请勿重复使用

储存和运输

所有的试剂应该室温密封保存，置于阴凉干燥处，尽量在室温下运输。

有效期标注在试剂的盒子上和各种单一组分的的标签上，请勿使用任何过期的试剂。任何偏离说明书的操作都可能会影响试剂的效能，因此实验人员必须对其进行验证。

需自备材料及设备

- **taco™** 自动核酸萃取系统 (**taco™**)
- 一步式移液管 (选配)
- 一次性手套
- 离心管
- 移液枪和带滤芯枪头 (p1000, p200)
- 95% 乙醇

简述

taco™ 全 DNA 萃取试剂盒适用于 **taco™** 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。此试剂可萃取全血和白细胞中的全 DNA，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™ 全 DNA 萃取试剂盒用来萃取全血和白细胞层中的全 DNA。**taco™** 全 DNA 萃取试剂仅适用于 **taco™** 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™ 标签的使用

方便起见，您可以将 **taco™** 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™ 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. 操作程序

- a. 根据表 1 在室温下(16-30°C)往 96 孔萃取反应盘添加试剂。

Table 1. 试剂添加

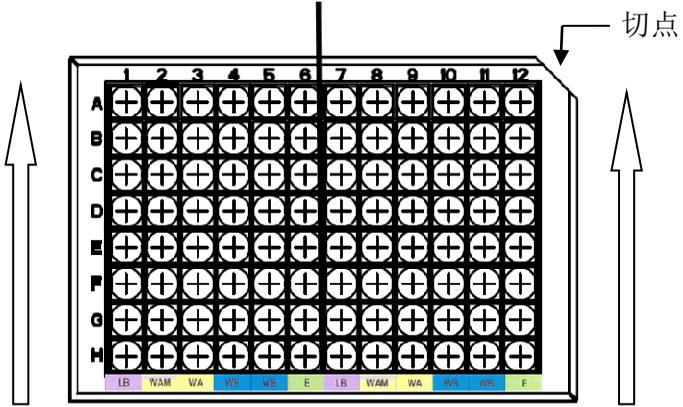
Step	试剂
1	添加 400 μl 裂解液 到列#1 (#7)
2	添加 750 μl 清洗液 A 到列#2 (#8)
3	添加 750 μl 清洗液 A 到列#3 (#9)
4	添加 750 μl 清洗液 B¹ 到列#4 (#10)
5	添加 750 μl 清洗液B 到列#5 (#11)
6	添加 50 μl 洗脱液 到列#6 (#12)
7	添加 50 μl 磁珠液² 到列#2 (#8)

¹清洗液 B 在第一次使用前需加入 230ml 95%乙醇。

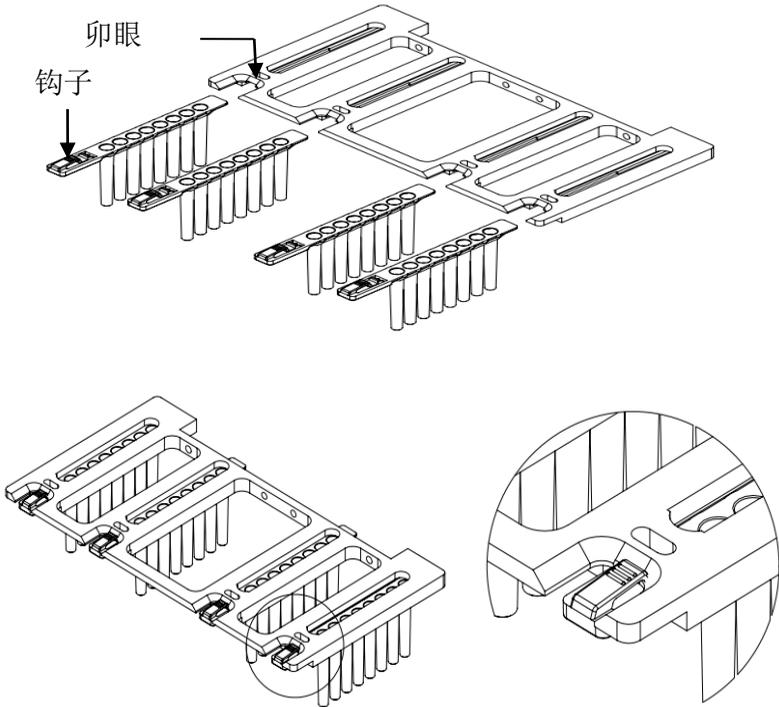
²磁珠液在制备前需重悬。

- b.用移液枪 (p1000) 吸取匀质的样本到列#1 (#7) (见“样本制备”, 附录 I)

- c. 开启 taco™ 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。



- d. 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).



- e. 按下 taco™ 的“Door”按钮，关闭进样门，然后按下“Start”按钮。
- f. 萃取完成后，第一时间丢弃搅拌套管。
- g. 取出 96 孔萃取反应盘，接着按下“Reset”按钮。
- h. 将全 DNA 从列#6 或#12 转移到新的离心管以供进一步使用。

(见“DNA 的纯度”，附录 II)

- i. 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°C。(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

通过分离全血和白细胞层中的基因组 DNA, 验证了系统性能。对于骨髓、培养的细胞、血浆和血清中的全 DNA, 还有全 RNA 的分离, 都没有经过验证。如果要利用 taco™ 全 DNA 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 低产出率

- | | |
|------------------|--|
| (a) 磁珠液没有充分重悬 | 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。 |
| (b) 清洗液 B 没有添加酒精 | 确保清洗液 B 加入了准确量的酒精；密封试剂瓶以防酒精蒸发。使用清洗液 B 需加入 230ml 95%的酒精；利用正确的试剂重复萃取的过程。 |
| (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。 |

解释与建议

- | | |
|----------------|--|
| (d)全血样品白细胞含量低 | 增加全血的量并保持获取的白细胞层的体积恒定 |
| (e) 样品质量差 | 建议使用新鲜样品，质量低下的样品可能会影响实验结果。 |
| (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℃） |
| (h) 使用非推荐的萃取设备 | 使用非推荐萃取设备会影响试剂的萃取效能，强烈建议使用 taco™ 萃取系统 |
-

解释与建议

下游应用时 DNA 的效能低

- (a) 萃取后 DNA 的体积
量小 使用 100 μ l 的洗脱液重新萃取新的
样本。
- (b) DNA 含量不足 利用分光光度计测定 DNA 在 260nm
处的吸光度，从而进行定量。（见
“DNA 的定量”，附录 II）
- (c) DNA 含量过高 过量的 DNA 会抑制一些酶的反应。
利用分光光度计测定 DNA 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

A_{260}/A_{280} 比率低

taco™ DNA/RNA 萃取试剂

- (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

A. 样品制备(全血和白细胞层)

往 96 孔萃取反应盘的列#1 (#7) 加入 200 μ l 全血或 150 μ l 白细胞层和 400 μ l 的裂解液。

B. 白细胞层的制备

一次性采血管中装有约 10ml 全血，室温下 3000 x g 离心 10 分钟。离心后，容易看到全血分成了三层：最上面一层是血浆；中间一层是白细胞层；最底下一层包含浓缩的红细胞。小心地将中间一层转移到新的离心管，它可能会含有少量的血浆和红细胞，先吸走最上面的血浆层有助于获取白细胞层。

附录 II

A. DNA 的储存

萃取后的 DNA 在 2-8°C 可以保存 24 小时，-20°C 可长期保存。

B. DNA 的定量

DNA 的浓度由分光光度计在 260nm 处的吸光度(A_{260})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 DNA 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。

收集纯化的 DNA 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 $\mu\text{g/ml}$ 的 DNA，260nm 和 280nm 吸光值的比值近似为 DNA 的纯度。（见“DNA 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 DNA 应用的效能。

*DNA 样品的浓度

$$= 50 \mu\text{g/ml} \times (A_{260} - A_{320}) \times \text{稀释系数}$$

* 核酸总量

$$= \text{浓度} \times \text{样品体积 (ml)}$$

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 DNA 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。