

DNA 提取试剂盒和自动移液工作站

LHS SmartExtraction 试剂盒

从哺乳动物组织中分离高分子量 DNA(HMW) 的方案

概览

LHS SmartExtraction 试剂盒专门用于从细菌、酵母菌、组织样本和啮齿动物尾巴中自动分离高分子量 DNA (HMW)。该试剂盒应用 IST Innuscreen GmbH 公司发明的 Smart Modified Surfaces (智能修饰表面) 的 SmartExtraction 技术, 提取过程基于基因组 DNA 对智能修饰表面的吸附。因此, 无需磁珠来结合 DNA。

1. 应用简述

使用 BRAND 的自动移液工作站从 8 份小鼠尾尖样品 (每份样品 0.5 cm 或 45–55 mg) 中自动分离出了 HMW DNA。化学裂解、HMW DNA 的结合和提取均基于 IST Innuscreen 开发的技术。对分离出的 DNA 样品做了分析, 然后将其应用于不同的分子实验, 以此确定 DNA 的自动化提取成功。

2. 实验方案简介

该方案的第一步是使用小鼠尾尖制备裂解样品, 即将样品切成小块, 加入裂解化学试剂, 然后重新悬浮在缓冲液中。将裂解的小鼠尾尖样品移入深孔板的一个孔中, 然后再加入特定的化学结合剂, 开始自动提取 DNA。接下来, 使用经过优化的洗涤剂在不同的孔中执行一系列的洗涤步骤。最后, 在不同的孔中用洗脱液洗脱 HMW DNA。

3. 数据结果

A) 琼脂糖凝胶电泳

为了观察和确认 8 份小鼠尾尖样品中的 HMW DNA, 在提取 DNA 后进行了 0.8 % 琼脂糖凝胶电泳。期间, 每份样品以 10 μ l DNA 提取产物在 120 V 的电压下电泳 30-40 分钟。再使用 UVP GelStudio PLUS (Analytik Jena GmbH) 进行了琼脂糖凝胶电泳成像和观察。结果显示从小鼠尾尖中成功提取出了 HMW DNA (图1)。低分子量的模糊条带表明, 样品中存在 mRNA, 这是哺乳动物细胞样品中可观察到的典型现象, 而且可在裂解步骤后添加 RNase 来进行处理。

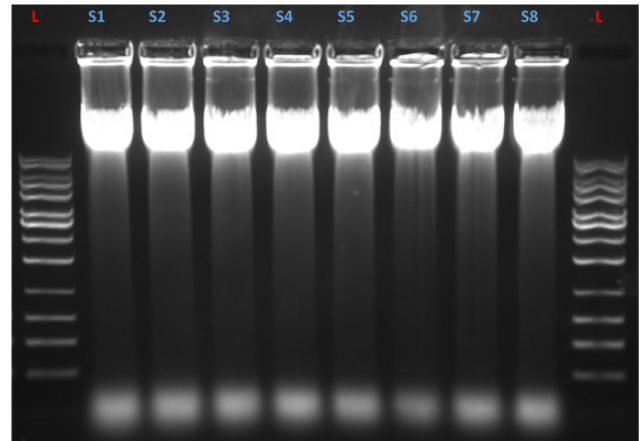


图 1. 8 份小鼠尾尖样品的凝胶电泳成像。高分子量的明亮条带表明, 从 8 份小鼠尾尖样品中成功提取出了 DNA, 而低分子量的模糊条带表明, 样品中存在 mRNA。L, DNA Marker 条带; S1 至 S8, 1 至 8 号小鼠尾尖样品。

B) 分光光度检测和 UV-CIS 曲线

为了评估 DNA 的纯度和浓度, 对提取后的 DNA 使用 NanoPhotometer N60[®] (Implen GmbH) 进行了纳米分光光度检测。

样品	浓度 (ng/ μ l)	产量 (μ g)	$A_{260/280}$	$A_{260/230}$
样品_1	346,95	69,39	1,833	2,021
样品_2	315,45	63,09	1,881	2,033
样品_3	312,35	62,47	1,882	2,021
样品_4	346,55	69,31	1,878	2,039
样品_5	350,05	70,01	1,875	2,043
样品_6	347,95	69,59	1,883	2,050
样品_7	352,20	70,44	1,884	2,039
样品_8	361,30	72,26	1,879	2,027

表1. 鼠尾 DNA 的分光光度检测。数据显示, 所有 8 份细胞 DNA 样品的浓度和产量均较高, 吸光度比值良好。结果中未检测到污染物。

每份样品共测量了 1 μ l DNA 提取产物, 并记录了读数。结果显示, 小鼠尾尖 DNA 的浓度和产量都很高, 而且未检测到污染 (表1; 图 2)。

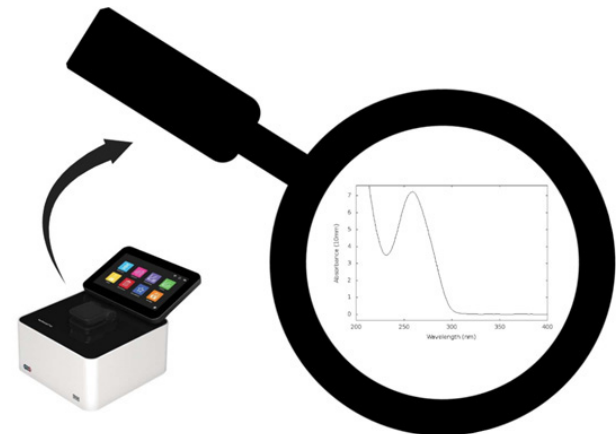


图2. 使用 NanoPhotometer N60[®] 对其中一份小鼠尾尖样品进行的 UV-CIS 检测的可视化。结果表明, 该小鼠尾尖 DNA 提取产物的吸光度比值良好。

C) 下游应用 (RT-PCR)

为了评估提取的小鼠尾尖 DNA 能否成功扩增,并确定提取的 DNA 是否适合下游应用,我们进行了 RT-PCR 分析。简而言之,就是使用 innuDRY qRT-PCR MasterMix Probe 按照制造商的说明对总共 1 μ l 的 HMW DNA 提取产物进行定量。对一

式两份样品做了分析, RT-PCR 反应在 CFX Connect Real-Time PCR Detection System (Bio Rad) 上运行。RT-PCR 结果表明,提取的 DNA 扩增成功,且未检测到任何抑制性产物。

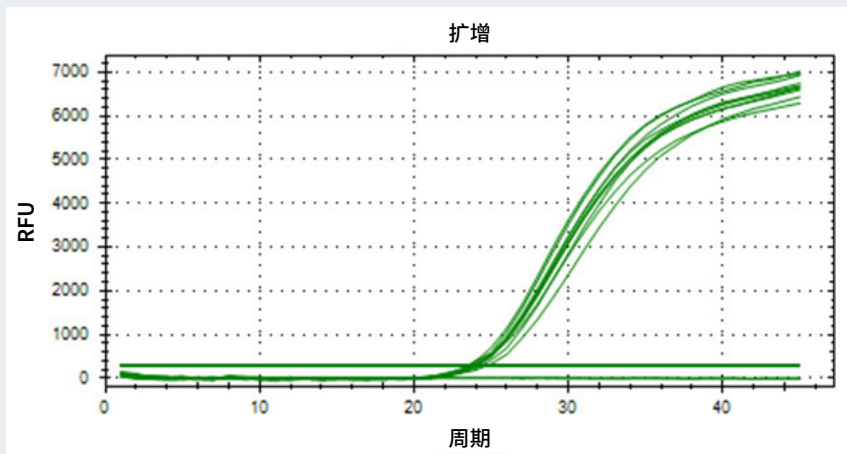


图3. 使用自动移液工作站提取的 DNA 扩增成功。结果显示,所有样品的扩增率相似,且未发现任何抑制性产物。

BRAND GMBH + CO KG

P.O. Box 1155 | 97861 Wertheim | Germany

T +49 9342 808 0 | F +49 9342 808 98000 | info@brand.de | www.brand.de



BRAND. For lab. For life.®

BRAND®, BRAND. For lab. For life.® 以及这里出现的数字商标, 和 BRAND 数字商标都为注册商标或者 BRAND GMBH + CO KG, Germany 的注册商标。BRANDGROUP 图形商标是德国 Brand Group SE & Co. KG 的注册商标。所有这里提及或出现的商标都为各自所有者的财产。

我们的技术文档意为通知与建议我们的客户。当然, 许多经验值的实现与在特定测试条件下获得的结果, 在实际应用时可能由于各种的因素而超出我们的控制范围。因此, 请原谅我们不能承担由我们的建议衍生的责任。使用者有责任确定产品是否符合所进行的特定应用。

可能包含错误。



在 shop.brand.de 您可以找到附件, 配件, 用户手册, 测试指南 (SOP) 以及产品视频



更多资讯, 请关注我们的官方微信信号: 德国 BRAND

© 2024 BRAND GMBH + CO KG | Printed in Germany | 0724

BRAND (Shanghai) Trading Co., Ltd.
Shanghai, China

T +86 21 6422 2318
info@brand.com.cn
china.brand.com.cn

