

磁珠组织 DNA 提取方法

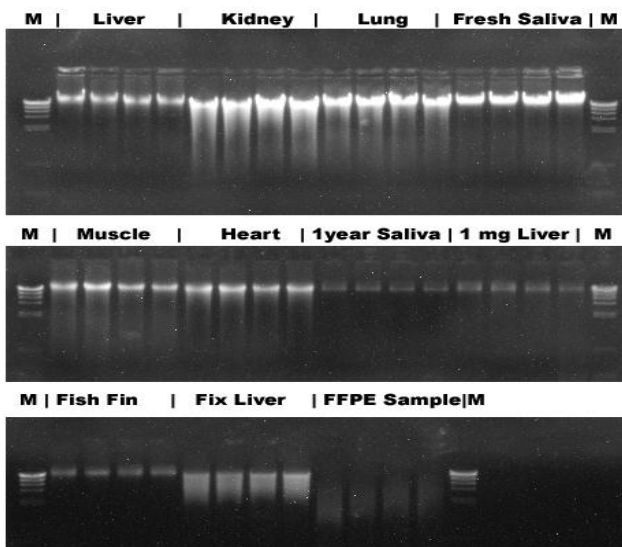
简介

组织样品中含有丰富的 DNA，是分子生物学研究，法医检测和遗传病检测等重要来源。从组织样品中提取 DNA 的流程有两个最重要的过程：裂解和纯化。裂解过程是指组织样品经研磨或匀浆打散后（这一步可省略），加入 SDS/Tris/EDTA 裂解液和蛋白酶 K 消化，让 DNA 从染色质/核小体的复合物中完全解离出来，形成游离的 DNA。纯化过程是指去除消化液中的各种蛋白质，细胞碎片，碳水化合物，脂类等杂质，从而得到高纯化的 DNA，以满足下游的应用。目前纯化方法有许多，常用的方法有酚氯仿抽提、硅胶柱纯化、二氧化硅磁珠纯化(磁性纯化)、离子交换层析、以及盐析法等。随着分子诊断技术和分子生物学的不断发展，越来越多的生物样品需要进行分析，自动化高通量的 DNA 提取纯化技术是越来越显得重要。Magen 公司的 MagPure Tissue DNA Kit 是专门为高通量的组织和细胞等样品 DNA 提取而设计的。该产品采用改良的二氧化硅磁珠纯化技术，可高通量地从抗凝血样中提取高纯度的 DNA。该产品已在自动化核酸提取仪 KingFisher Flex 上，以及自动化移液工作站如 Versa 1000, Beckmex 上得到广泛的应用。为进一步验证该产品的性能，我们选择了血液样品，用 KingFisher Flex 进行提取，提取后采用 Nanodrop 2000 测量 OD 值，以电泳和 PCR 等相关手段进行分析。结果表明，MagPure Tissue DNA Kit 纯化得到的核酸可满足各种分子生物学运用，在 KingFisher Flex 上处理 96 个样品只需 40 分钟，大大提高了提取效率和稳定性。

实验结果

1. 基因组 DNA 的电泳结果

取不同动物组织样品和人体唾液样品，用 MagPure Tissue DNA Kit 进行提取基因组 DNA，提取平台采用 KingFisher Flex(Thermo Fisher)。纯化后，取纯化的 DNA 上样于 0.8%琼脂糖凝胶电泳分析结果（如下图）。结果表明，使用该试剂盒可以得到完整的基因组 DNA。M: Lambda DNA/Hind III Marker.



2. DNA 纯度和产量

取纯化后 DNA，用 Buffer TE 稀释 11 倍后，在 Beckmen DU640 测量 OD260, OD280, OD230，列表如下。测量结果表明，得到的 DNA，OD260/OD280 约为 1.7-1.9 之间，OD260/OD230 约 1.8-2.5 之间，OD320 读数很低，表明纯化得到的 DNA 纯度高。其中肝脏 DNA 产量约为 20-60ug/10mg；皮肤/肌肉类样品 DNA 产量约为 4-10ug/10mg；人类唾液产量也达至 3-15ug/100ul。

Sample ID	Conc. $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	260/280	260/230	产量
鸡肝脏 (10mg)	0.2463	1.81	1.2	49
	0.2417	1.81	1.22	48
鸡肾脏 (10mg)	0.5628	1.93	2.25	113
	0.6029	1.94	2.24	121
鸡肺脏 (10mg)	0.3945	1.93	2.22	79
	0.4142	1.93	2.16	83
鸡肌肉 (10mg)	0.0567	1.84	1.54	11
	0.0533	1.84	1.57	11
鸡心脏 (10mg)	0.0646	1.95	2.17	13
	0.0704	1.93	2.13	14
唾液 (100ul)	0.0403	1.69	1.51	4
	0.0509	1.98	1.5	5
1mg 鸡脏	0.0147	2.07	1.67	3
	0.0164	1.88	1.25	3
鱼鳍 (20mg)	0.0335	1.94	2.03	7
	0.0339	1.92	2.06	7

● 自动化平台上工作时间

自动化平台名称	仪器特征	所需时间
KingFisher Flex	96 孔提取仪	40 分钟
Versa 1000	8 通道移液工作站	120 分钟
Beckmex 2000	8 通道移液工作站	150 分钟
手工操作	配 96 孔涡旋仪	100 分钟

Tissue	Nucleic Acid Conc.	Unit	A260	A280	260/280	260/230	260/230	品牌
Ear	29.8	ng/ μ l	0.596	0.326	1.83	1.86	5.96	Qiagen
Ear	31.15	ng/ μ l	0.623	0.339	1.84	1.79	6.23	Magen
Kidney	91.3	ng/ μ l	1.826	0.987	1.85	1.99	18.26	Qiagen
Kidney	97.8	ng/ μ l	1.956	1.052	1.86	2.04	19.56	Magen
Skin	19.9	ng/ μ l	0.398	0.215	1.85	2.2	3.98	Qiagen
Skin	20.6	ng/ μ l	0.412	0.225	1.83	1.98	4.12	Magen
Tail	27.55	ng/ μ l	0.551	0.295	1.87	2.06	5.51	Qiagen
Tail	29.05	ng/ μ l	0.581	0.311	1.87	2.16	5.81	Magen
Liver	104.8	ng/ μ l	2.096	1.145	1.83	1.76	20.96	Qiagen
Liver	136.5	ng/ μ l	2.730	1.484	1.84	1.77	27.3	Magen
Spleen	91.3	ng/ μ l	1.826	0.987	1.85	1.98	18.26	Qiagen
Spleen	97.8	ng/ μ l	1.956	1.052	1.86	2.14	19.56	Magen
Heart	99.9	ng/ μ l	1.998	1.080	1.85	2.02	19.98	Qiagen
Heart	107.3	ng/ μ l	2.146	1.173	1.83	1.88	21.46	Magen
lung	312.95	ng/ μ l	6.259	3.347	1.87	2.06	62.59	Qiagen
lung	337.95	ng/ μ l	6.759	3.614	1.87	2.16	67.59	Magen

Magen Kit

Qiagen BioSprint Kit

M 1 2 3 4 5 6 7 8 1 2 3 4 5 6 7 8 M

