

Marine Animals DNA Kit

海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

目录号: DHYC 23

试剂盒组成

组分	保存	50 次	100 次
Buffer GL1	室温	10 ml	20 ml
Buffer GL2	室温	10 ml	20 ml
Buffer WB1	室温	25 ml	50 ml
Buffer WB2	室温	13 ml	25 ml
		第一次使用前按说明加指定量无水乙醇	
Buffer TE	室温	10 ml	20 ml
Proteinase K (20 mg/ml)	室温	1 ml	1 ml×2
Onestep-Lysis® Columns AC	室温	50 个	100 个
Collection Tubes	室温	50 个	100 个
Manual		1 份	

保存方法

Proteinase K 溶解于独特的溶液体系，使酶在常温下非常稳定，方便运输与保存，避免了反复冻融带来的品质下降。其他组分室温保存 12 个月内效果稳定，低温时溶液可能会析出和沉淀，此时可以 65°C 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品介绍

本试剂盒采用优化的缓冲体系/蛋白酶 K 提取多种细胞中的基因组 DNA。裂解液中的 DNA 高效特异的结合到硅基质离心吸附柱上，而其他污染物可流过膜，PCR 和其他酶促反应的抑制剂可通过两步洗涤步骤被有效去除，最后使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度 DNA，纯化过程无需苯酚/氯仿等有机试剂。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

产品特点

- 无需有机试剂抽提，安全无异味。
- 适用于多种动物（贝类、虾类、鱼类等）细胞和组织等。
- 提取的 DNA 纯度高，满足各种下游实验的要求。

标准抽提步骤

- 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
 - 开始试验前请将需要的水浴或金属浴预热至 56℃ 备用。
 - 第一次使用前请先在 Buffer WB2 瓶加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框内打钩标记，以免重复加入！
1. 切取 ≤30 mg 的组织材料，放入装有 180 μl Buffer GL1 的离心管中，涡旋振荡 15 s。
➤ 注意：根据提取的组织不同，起始量也稍有不同，腮的细胞量较大，一般建议提取量不超过 20 mg。如果裂解困难，可先用液氮研磨。
 2. 加入 20 μl Proteinase K (20 mg/ml) 溶液，涡旋混匀。在 56℃ 放置，直至组织完全溶解。
➤ 注意：不同组织裂解时间不同，通常需 0.5-2 h 即可完成。扇贝组织 0.5 h 基本可裂解完全，虾和鱼类组织 1 h。每小时振荡混合样品 2-3 次，每次振荡混匀 15 sec。
➤ 可选做步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可在裂解完成后加入 10 μl RNase A (10 mg/ml) 溶液，室温放置 5 min。
 3. 加入 200 μl Buffer GL2，吸打或涡旋振荡充分混匀，70℃ 放置 10 min。
 4. 冷却后加入 100 μl 异丙醇，充分颠倒或涡旋振荡充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
 5. 将上一步混合物和可能的沉淀都加入到 Onestep-Lysis® Columns AC 中（吸附柱 AC 放入收集管中），12,000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。
 6. 向吸附柱 AC 中加入 500 μl Buffer WB1，12,000 rpm 离心 1 min，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。
-

7. 向吸附柱 AC 中加入 600 μl Buffer WB2 (使用前请检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉废液, 将吸附柱放回收集管中。
 8. 重复步骤 7。
 9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 尽量除去残留的 WB2, 弃掉收集管和废液。
 - 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会降低洗脱效率, 影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。
 10. 将吸附柱 AC 放入一个新的 1.5 ml 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100 μl Buffer TE 或灭菌水, 室温放置 3-5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集 DNA 溶液。-20 $^{\circ}\text{C}$ 保存 DNA。
 - Buffer TE 在 65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热可以增加产量。
 - 如果要提高 DNA 的终浓度, 可以将步骤 10 所得的 DNA 洗脱液重新加至吸附膜上再次洗脱; 若洗脱体积小于 100 μl , 也可以增加 DNA 的终浓度, 但可能会减少 DNA 的总产量。如果所得 DNA 的量小于 1 μg , 推荐用 50 μl Buffer TE 进行洗脱。
-