

海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒	50 次制备
Cat.No.	4106050
核酸纯化柱	50 个
2 ml 离心管	50 个
蛋白酶 K 贮存液	1.2 ml
Buffer AT	15 ml
Buffer SL	12 ml
Buffer WA	12 ml
Buffer WB	9.5 ml
Buffer TE	12 ml
说明书	1 份

产品储存与有效期

1. 蛋白酶 K 贮存液可常温（0~30℃）运输和存放，有效期为 12 个月；长期不用可储存于 -20℃，可延长有效期至两年。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn，电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的核酸纯化柱和独特的缓冲液系统，提取多种海洋生物细胞中的基因组 DNA。被溶解的动物组织样本经蛋白酶 K 消化后 DNA 将结合到纯化柱上，降解的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 1.5 ml 离心管、移液器及吸头
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
5. 水浴锅和旋涡振荡器

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 将水浴锅温度设置到 56℃和 70℃，将 Buffer AT 和 Buffer TE 温育至 56℃。
3. 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1. 用手术刀切取小于 30 mg 的组织材料，再用刀尖将组织剁成匀浆状，转移至一个 1.5 ml 离心管中，加入 200 μ l 56°C 预热的 Buffer AT，旋涡振荡 15 秒。

* 根据提取的组织不同，起始量也稍有不同，腮的细胞量较大，一般建议取样量不超过 20 mg。样本应避免反复冻融，否则会导致 DNA 降解且电泳条带拖尾严重。

2. 加入 20 μ l 蛋白酶 K 贮存液，旋涡振荡混匀，在 56°C 孵育至组织完全溶解，低速离心数秒使管盖内壁的水珠都聚集到管底，再进行下一步骤。

* 参考孵育时间：

材料	建议孵育时间	DNA 得量
贝类组织	0.5 h	12-20 μ g
虾组织	1 h	8-14 μ g
鱼类组织	1 h	15-40 μ g

* 如果从非常新鲜的组织中提取 DNA，可能会同时获得部分 RNA，但是 RNA 的存在并不影响 PCR 相关的实验。如需去除 RNA，请在本步骤结束后添加 5 μ l RNase A (50 mg/ml) (需单独订购, Simgen Cat. No.: 8001001)，旋涡振荡 30 秒混匀，室温静置 2 分钟后进入步骤 3 操作。

3. 加入 200 μ l Buffer SL，充分颠倒混匀，70°C 放置 10 分钟，溶液应变清亮，低速离心数秒使管盖内壁的水珠都聚集到管底。

* 注意：加入 Buffer SL 时可能会产生白色沉淀，一般 70°C 放置时会消失，不会影响后续实验。

4. 加入 200 μ l 无水乙醇，剧烈旋涡振荡混匀。

5. 吸取步骤 4 中的溶液加入到核酸纯化柱（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 注意不要将溶液沾到纯化柱管口的边缘上，以免后续的洗涤步骤不能洗净纯化柱。

6. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2 ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

7. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

8. 弃 2 ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2 ml 离心管中，14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。

9. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中，在纯化柱中加入 100-200 μ l 56°C 温育的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 1 分钟，12000 rpm 离心 30 秒。

* 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免 1.5 ml 离心管管盖脱落而损伤离心机。

10. 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。