

## 海洋动物组织基因组 DNA 提取试剂盒

### 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
Buffer AT	15 ml
Buffer SL	12 ml
Buffer WA	12 ml
Buffer WB	10 ml
Buffer TE	15 ml
蛋白酶 K 贮存液	1.2 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](mailto: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. 1.5ml 离心管和移液器吸头
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式少量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 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作好“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，放入装有 200  $\mu$ l Buffer AT（经过 56 $^{\circ}$ C 预热）的 1.5 ml 离心管中，涡旋振荡 15 sec。**

\* 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。

\* 如果样本非常新鲜，可能最终提取到的DNA中会混有RNA。如果需要去除RNA，请加入5  $\mu$ l RNase A 储存液（需单独订购，simgen Cat. No.: 8001001），振荡 15 sec，室温放置5 min后进入步骤2的操作。

**2. 加入 20  $\mu$ l 蛋白酶 K 贮存液，涡旋混匀，在 56 $^{\circ}$ C 孵育至组织完全溶解，低速离心数秒以去除管盖内壁的水珠，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 $\mu$ g
虾组织	1 h	8-14 $\mu$ g
鱼类组织	1 h	15-40 $\mu$ g

**3. 加入 200  $\mu$ l Buffer SL，充分颠倒混匀，70 $^{\circ}$ C 放置 10 min，溶液应变清亮，低速离心数秒以去除管盖内壁的水珠。**

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

**4. 加入 200  $\mu$ 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（纯化柱置于 2ml 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 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 500  $\mu$ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。**

\* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

\* 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 2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

**7. 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600  $\mu$ 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 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 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 2ml 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  $\mu$ l 56 $^{\circ}$ 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 1.5ml 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 $^{\circ}$ C 备用。**