

版本号: 250824

**Marine Animal genomic DNA Kit****海洋动物组织 DNA 快速提取试剂盒**

目录号: DN37

**❖ 适用范围:**

适用于快速提取各种海洋动物、鱼类、贝类等组织基因组DNA

**❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:**

试剂盒组成	保存	50 次	100 次	200 次
		(DN3701)	(DN3702)	(DN3703)
平衡液	室温	5 ml	10 ml	20 ml
裂解液 SL	室温	11 ml	20 ml	40 ml
结合液 CB	室温	11 ml	20 ml	40 ml
去蛋白液 PE	室温	16 ml	32 ml	64 ml
		第一次使用前按瓶子标签指示加入无水乙醇		
漂洗液 WB	室温	13 ml	25 ml	50 ml
		第一次使用前按瓶子标签指示加入无水乙醇		
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml	20 ml
蛋白酶 K 溶液	4°C	1 ml	1 ml × 2	1 ml × 4
吸附柱 AC	室温	50 个	100 个	200 个
收集管 (2 ml)	室温	50 个	100 个	200 个

本试剂盒（低温组分除外）室温储存 12 个月不影响使用效果。

**储存事项:**

1. 裂解液 SL、结合液 CB 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37°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。
2. 蛋白酶 K 保存在即用型甘油缓冲液中，常温运输。收到后，不超过 25°C 室温至少保存 6 个月，4°C 保存 12 个月，-20°C 保存 2 年。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

## ❖ 产品介绍:

独特的结合液/蛋白酶 K 迅速裂解细胞，利用硅胶膜离心柱特异地吸附 DNA，无需酚氯仿等有毒试剂，也无需进行耗时的醇类沉淀，最大限度的去除蛋白及其他抑制性杂质。适用于从各种海洋动物、鱼类、贝类等组织中高效地提取基因组 DNA。提取的 DNA 可直接用于酶切、PCR、Southern Blot、病毒检测等实验。

## ❖ 产品特点:

1. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要耗时的乙醇沉淀等。
2. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 30 分钟内完成。
3. 多次柱漂洗确保高纯度，OD<sub>260</sub>/ OD<sub>280</sub> 典型的比值达 1.7~1.9，长度可达 30 kb-50 kb，可直接用于 PCR、Southern-blot 和各种酶切反应。

## ❖ 注意事项:

1. 所有的离心均在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的台式离心机。
2. 需要自备异丙醇(添加异丙醇的步骤，首选推荐使用异丙醇，没有异丙醇也可以用乙醇替代)。RNase A (可选)。
3. 开始实验前将需要的水浴先预热到 55°C 备用。

## ❖ 操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

- ⇒ 第一次使用前请按照漂洗液 WB 和去蛋白液 PE 瓶标签指示中加入无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
1. 切取不多于 30 mg 的组织材料，放入装有 180 μl 组织裂解液 SL 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 的蛋白酶 K 溶液(20 mg/ml)，立刻涡旋振荡充分混匀。将裂解物放置在 55°C 水浴 1-3 小时或者直到组织消化完。
    - ▲ 不同组织裂解时间不同，通常需 0.5-2 小时即可完成。扇贝组织 0.5 小时基本可裂解完全，虾和鱼类组织 1 小时。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，可在完成步骤 2 后加 5 μl RNase A(100 mg/ml)溶液，振荡混匀，室温放置 5-10 min。
  3. 加入 200 μl 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，70°C 孵育 10 min。

4. **柱平衡**: 向吸附柱 AC 中加入 100  $\mu$ l 平衡液, 13,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液, 备用。
  - ▲平衡液可以增强硅胶膜的吸附核酸能力, 请使用当天处理的吸附柱。
5. 冷却后加 100  $\mu$ l 异丙醇, 充分涡旋振荡充分混匀, 此时可能出现絮状沉淀。
  - ▲上述步骤中立刻涡旋或者吹打充分混匀非常重要, 混匀不充分严重降低产量, 必要时如样品粘稠不易混匀时可以涡旋振荡 15 sec 混匀。
6. 将上一步混合物和可能的沉淀都加入一个吸附柱 AC 中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 1 min, 倒掉收集管中的废液。
  - ▲如果有不溶组织物可能堵住枪头, 可将枪头在吸水纸上轻蹭去除不溶物; 如果吸上来的混合物少则可以将枪头和不溶物一起弃去, 该做法是为了去除不溶物, 以免堵塞离心柱。
7. 加入 500  $\mu$ l 去蛋白液 PE (请先检查是否已加入无水乙醇!), 13,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液。
8. 加入 600  $\mu$ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 13,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液。
9. 重复步骤 8 一遍。
10. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 13,000 rpm 离心 2 min, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
11. 取出吸附柱 AC, 放入一个干净的离心管中, 在**吸附膜的中间部位**加 50-100  $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 80-100°C 水浴中预热可以提高产量), 室温放置 3-5 min, 13,000 rpm 离心 1 min。
  - ▲可将第一次洗脱所得溶液重新加入离心柱中, 室温放置 2 min, 13,000 rpm 离心 1 min。可以提高浓度 10%左右。
  - ▲洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果需要 DNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 30  $\mu$ l, 体积过小降低 DNA 洗脱效率, 减少 DNA 产量。
12. DNA 可以存放在 -20°C, 如果要长时间存放, 可以放置在 -70°C。