



北京博凌科为生物科技有限公司

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: [blkwbio@blkwbio.com](mailto:blkwbio@blkwbio.com)

- ◆ 海洋动物组织基因组DNA快速提取试剂盒
- ◆ 目录号 1437
- ◆ 使用手册
- ◆ 实验室使用，仅用于体外

## 海洋动物组织基因组 DNA 快速提取试剂盒

目录号：1437

适用于快速提取各种海洋动物组织基因组DNA

### ❖ 试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次 (143701)	100 次 (143702)	200 次 (143703)
裂解液 SL	室温	11 ml	20 ml	40 ml
结合液 CB	室温	11 ml	20 ml	40 ml
抑制物去除液 IR	室温	25 ml	50 ml	100 ml
漂洗液 WB	室温	15 ml	25 ml	50 ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇		
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml	15ml ×2
蛋白酶 K 粉 (可选) 20mg/ml	-20℃	20mg	2×20mg	4×20mg
吸附柱 AC	室温	50 个	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个	200 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果

储存事项：

1. 结合液 CB 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 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. 为避免降低活性、方便运输，提供蛋白酶 K 为冻干粉状，收到后，可短暂离心后，加入 1ml 灭菌水溶解，因为反复冻融可能会降低酶活性，因此溶解后立即按照每次使用量(20 微升)分装冻存，-20℃ 保存。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、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 迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤，抑制物去除液和漂洗液将细胞代谢物、蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

❖ **注意事项：**

洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保批 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20℃。DNA 如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0），但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

**提示：**第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，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 30mg 的组织材料，放入装有 180μl 组织裂解液 SL 的 1.5ml 离心管中，涡旋振荡 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，一般建议提取量不超过 20mg。如果裂解困难，可先用液氮研磨。**

2. 加入 20μl 的蛋白酶 K 溶液(20mg/ml)，立刻涡旋振荡充分混匀。将裂解物放置在 55℃ 水浴 1-3 小时或者直到组织消化完全。

**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 秒。**

**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 20μl RNase A(25mg/ml)溶液，振荡混匀，室温放置 5-10 分钟。

3. 加入 200μl 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，70℃放置 10 分钟。

- 
4. 冷却后加 100 $\mu$ l 异丙醇, 充分颠倒或涡旋振荡充分混匀, 此时可能出现絮状沉淀。
5. 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) 13,000rpm 离心 60 秒, 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。

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 秒混匀。

6. 加入 500 $\mu$ l 抑制物去除液 IR, 12,000rpm 离心 30 秒, 弃废液。
7. 加入 700 $\mu$ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
8. 加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB, 12,000rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 13,000rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 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 100 $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热效果更好), 室温放置 3-5 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置 2 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟。
- 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 50 $\mu$ l, 体积过小降低 DNA 洗脱效率, 减少 DNA 产量。
11. DNA 可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C, 如果要长时间存放, 可以放置在 -20 $^{\circ}$ C。