

版本号: DP121221

TIANamp Marine Animals DNA Kit

海洋动物组织基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP324

产品内容

产品组成	DP324-02 (50 preps)	DP324-03 (200 preps)
缓冲液GA (Buffer GA)	15 ml	50 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	15 ml	50 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml	52 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml	60 ml
Proteinase K	1ml	4 × 1 ml
吸附柱CB3 (Spin Columns CB3)	50个	200个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个

选配试剂

RNase A (100mg/ml) (目录号: RT405-12)

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25℃) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37℃水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，提取多种细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

提取得率

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

产品特点

简单快速：1h内即可获得超纯的基因组DNA。

广 泛：适用于多种动物细胞和动物组织等。

超 纯：获得的DNA纯度高，可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
 2. 若缓冲液GA或GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，摇匀后使用。
 3. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。
-

操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 切取不多于30 mg的组织材料，放入装有200 μ l GA 缓冲液的离心管中，涡旋振荡15 sec。

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。

如果需要去除RNA，可加入4 μ l RNase A (100 mg/ml) 溶液（客户自备，目录号：RT405-12），振荡15 sec，室温放置5 min。

2. 加入20 μ l Proteinase K (20 mg/ml)溶液，涡旋混匀，简短离心以去除管盖内壁的水珠。在56 $^{\circ}$ C放置，直至组织完全溶解，简短离心以去除管盖内壁的水珠，再进行下一步骤。

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。

3. 加入200 μ l缓冲液GB，充分颠倒混匀，70 $^{\circ}$ C放置10 min，溶液应变清亮，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

注意：加入缓冲液GB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。如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取DNA量少和提取出的DNA不纯。

4. 加入200 μ l 无水乙醇，充分颠倒混匀，此时可能会出现絮状沉淀，简短离心以去除管盖内壁的水珠。

5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个吸附柱CB3中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放回收集管中。

6. 向吸附柱CB3中加入500 μ l缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。

7. 向吸附柱CB3中加入600 μ l 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。
-

8. 重复操作步骤7。

9. 将吸附柱CB3放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 × g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CB3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

10. 将吸附柱CB3转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200 μl洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，12,000 rpm (~13,400 × g)离心2 min，将溶液收集到离心管中。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于50 μl，体积过小影响回收效率。为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CB3中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 × g)离心2 min。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用ddH₂O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。
