

Biospin Insect Genomic DNA Extraction Kit

Biospin 昆虫基因组 DNA 提取试剂盒

TECHNICAL SUPPORT:

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211, or fax to 0086-571-87774553

Email to reagent@bioer.com.cn.

Website: www.bioer.com.cn

试剂盒组成

货号	BSC26S1	BSC26M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
FL Buffer	30.0ml	60.0 ml
PK solution	1ml	2 ml
Binding Buffer	35.0ml	70.0 ml
PW Buffer	12 ml (使用前加 18 ml 乙醇)	22 ml (使用前加 33 ml 乙醇)
Wash Buffer	26 ml (使用前加 39 ml 乙醇)	50 ml (使用前加 75 ml 乙醇)
Elution Buffer	10.0ml	20.0 ml
Spin Column	50	100
说明书	1 份	1 份

储存条件

- ◆ 除 PK Solution 保存于 2-8℃，其余保存于室温（15-25℃）。
- ◆ 所有试剂可稳定保存 18 个月。

介 绍

本产品提供了一套从昆虫组织中提取基因组 DNA 的简单、快速、经济的方法。该方法以选择性的 Biospin 膜系统为基础，可以在 1 小时内完成如基因组 DNA 这样的高分子量 DNA 的提取纯化。该方法步骤简单，能有效去除各种色素，甲壳素，多糖等杂质，可一次同时提取多个样本。

提取纯化后的基因组 DNA，可以直接用于 PCR/Real-Time PCR, Sequencing, Southern Blot, Mutant Analysis, SNP 等下游应用实验。

原 理

首先将研磨粉碎的昆虫组织样品通过 FL Buffer 和 PK Solution 的裂解作用，使基因组 DNA 被释放出来。通过氯仿抽提离心，去除大部分杂质。然后，由于加入的 Binding Buffer 中适当的盐分及 pH 值的作用下，DNA 被特异性吸附于 Biospin 膜上。通过洗涤，可将蛋白质等残留的杂质去除。最后使用 Elution Buffer 将 DNA 从膜上洗脱下来，从而获得基因组 DNA。

需要的配套设备和材料

- * 无菌1.5/2.0ml离心管
- * 各种规格移液器和无菌移液器吸头
- * 离心机(最大转速>14,000g)
- * 无水乙醇
- * 氯仿

重要提示

- ◆ 请在第一次使用前，向PW Buffer 中加入18ml 乙醇（无水）并混合均匀。
- ◆ 请在第一次使用前，向Wash Buffer 中加入39ml 乙醇（无水）并混合均匀。
- ◆ 如果FL Buffer 中出现浑浊，请于37° C环境中适当温育，待浑浊物质消失后再使用。

操作步骤

1. 在液化氮中将昆虫组织块研磨粉碎。
2. 取不多于30mg磨碎的组织，放入1.5 或 2.0ml微量离心管中。注意：样本的磨碎程度将影响裂解效果。
3. 加入600μl的FL Buffer和20μl PK solution（可选：加入2ul的100mg/ml RNase A），混合均匀。注意：混合充分将有助于裂解。
4. 于 56° C 温浴 30min 或直至完全裂解（如果昆虫组织较难裂解完全，可以适当延长温浴时间，大部分样本不超过 4h，个别需要过夜）。
5. 加 600μl 氯仿震荡混匀，然后 14000g 离心 3min。
6. 取 500μl 上清液，至新的 2.0ml 离心管中。
7. 加入 700μl Binding Buffer 和 300μl 无水乙醇，颠倒混匀。
8. 将混合液体转移至 Spin Column。于 10000g 离心 1min，并弃去接液管中的液体。由于混合液体积大于 750μl，请分两次离心过柱。
9. 向 Spin Column 中加入 500μl 的 PW Buffer。于 10000g 离心 30S，并弃去接液管中液体。
10. 向 Spin Column 中加入 600μl 的 Wash Buffer。于 10000g 离心 30S，并弃去接液管中液体。
11. 重复步骤 10。
12. 再次将 Spin Column 于 10000g 离心 1min，并将 Spin Column 转移至一个新的 1.5ml 离心管。
13. 向 Spin Column 中加入 50μl-100μl 的 Elution Buffer，并于室温放置 1min。
14. 10000g 离心 1min，并弃去 Spin Column，1.5ml 离心管中液体含有 DNA。
提取的 DNA 可直接用于各种下游应用实验，如不立即使用，请于-20°C 保存。

常见问题及对策

问1：一次提取可以从多少昆虫组织中提取DNA？

答：不多于30mg，最少5mg。

问2：除使用液化氮外，是否可以用购买的匀浆器将样本研磨粉碎。

答：可以。

问3：如何去除提取的DNA中的RNA污染？

答：可按说明书中的方法加入RNase A 来消化去除RNA。

问4：提取的基因组DNA 片断长度是多少？

答：提取的基因组DNA 片段长度一般为30~50KB。

问5：提取得率低怎么办？

答：样品与FL Buffer及PK 必须充分混合均匀，否则影响裂解效率，进而导致DNA 得率低。

另外，对于难裂解的样品，如甲壳类昆虫，可以延长56° C温浴时间至1-4h，甚至过夜。

问6：洗脱时使用多次洗脱的方法，是否能提高DNA 得率？

答：可以，一般可进行2次洗脱（例如洗脱液用量为100u1，则可以分2次，每次50u1洗脱），

另外，在洗脱前，对洗脱液预热也能够提高DNA得率。