

Biospin Marine Animal Genomic DNA Extraction Kit

Biospin 海洋动物基因组 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	BSC27S1	BSC27M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
FL Buffer	30ml	60ml
PK Solution	0.5ml	1ml
WS Buffer	5ml	10ml
Binding Buffer	35ml	70ml
PW Buffer	12ml (使用前加入 18ml 无水乙醇)	24ml (使用前加入 36ml 无水乙醇)
Wash Buffer	26ml (使用前加入 39ml 无水乙醇)	52ml (使用前加入 78ml 无水乙醇)
Elution Buffer	10ml	20ml
Spin Column	50	100
说明书	1 copy	1 copy

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海洋动物组织中提取基因组 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，可以在半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，完全避免与酚、氯仿等接触，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

首先将研磨粉碎的海洋动物组织样品通过 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 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

重要提示

1. 请在第一次使用前，向 PW Buffer 中加入 3.6ml 乙醇（无水）并混合均匀。
2. 请在第一次使用前，向 Wash Buffer 中加入 8.4ml 乙醇（无水）并混合均匀。
3. 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. 在液氮中将组织块研磨粉碎。
2. 取不多于 50mg 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。

- 加入600 μ l的FL Buffer和10 μ l PK Solution（可选：加入2 μ l的100mg/ml RNase A），混合均匀。注意：混合充分将有助于裂解。
- 于 56 $^{\circ}$ C 温浴 30min-3h（如果组织较难裂解完全，可以适当延长温浴时间，甚至过夜），直至组织完全被消化，然后 14000g 离心 3min。
- 取 500 μ l 上清液，至新的 2.0ml 离心管中。
可选步骤：加入 100 μ l WS buffer，混匀，12000g 离心 3min，取 500 μ l 上清液，至新的 2.0ml 离心管中。
- 加入 700 μ l Binding Buffer 和 300 μ l 无水乙醇，颠倒混匀。
- 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 750 μ l，请分两次离心过柱。
- 向 Spin Column 中加入 500 μ l 的 PW Buffer。于 10000g 离心 30S，并弃去接液管中液体。
- 向 Spin Column 中加入 600 μ l 的 Wash Buffer。于 10000g 离心 30S，并弃去接液管中液体。
- 重复步骤 9。
- 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。
- 向 Spin Column 中加入 50 μ l-100 μ l 的 Elution Buffer，并于室温放置 1min。
- 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 $^{\circ}$ C 保存。

常见问题及对策

问1：一次提取可以从多少动物组织中提取DNA？

答：不多于50mg。

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，如软骨组织，可以延长56 $^{\circ}$ C温浴时间至3h，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？

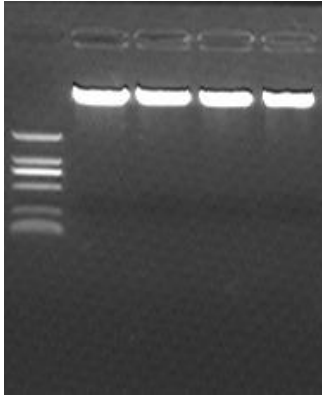
答：可以，一般可进行2次洗脱（例如洗脱液用量为100 μ l，则可以分2次，每次50 μ l 洗脱），另外，在洗脱前，对洗脱液预热也能够提高 DNA 得率。

问7：什么情况下使用WS Buffer？

答：如果样本本身的蛋白质等杂质含量很高，如鱼卵等样本，可通过 WS Buffer 先去除大分子蛋白质。但是此步骤的操作也会导致大部分基因组 DNA 的损失，所以，除非某些特殊的样本组织，此类组织蛋白含量很高，已经严重影响到基因组 DNA 的提取效果，否则，一般情况下我们并不建议使用 WS Buffer。

实验举例：琼脂糖凝胶浓度 1%，6V/cm，电泳 20min。

1. 提取鱼尾基因组 DNA



2. 提取贝壳肉基因组 DNA

