

软体动物 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.[®] Mollusc DNA Kit

货号	D3373-00	D3373-01	D3373-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind [®] DNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	10 个	100 个	400 个
ML1 Buffer	3 mL	30 mL	125 mL
MBL Buffer	5 mL	20 mL	80 mL
HBC Buffer	3 mL	25 mL	80 mL
Proteinase K Solution	150 μ L	1.4 mL	4 x 1.4 mL
RNase A	55 μ L	550 μ L	2 x 1.1 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	15 mL	3 x 20 mL
Elution Buffer	5 mL	20 mL	50 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

- 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；RNase A 长期保存放置 2-8°C；
- Proteinase K Solution 室温可放置 12 个月，长期保存建议放置 2-8°C；
- 当贮存温度较低时，ML1 Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 65°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
- 本试剂盒仅限科学研究使用

★ 实验前准备

- 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	DNA Wash Buffer 稀释	HBC Buffer 稀释
	无水乙醇 加入量	异丙醇 加入量
D3373-00	8 mL	1.2 mL

货号	DNA Wash Buffer 稀释	HBC Buffer 稀释
	无水乙醇 加入量	异丙醇 加入量
D3373-01	60 mL	10 mL
D3373-02	80 mL (每瓶)	32 mL

★ 提取步骤

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 10,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 1.5mL 或 2mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇、氯仿、异戊醇
- ✓ 温度可达 60°C、70°C 的孵育装置
- ✓ 涡旋仪

1. 根据样品的类型，选用以下的方法准备样品。

A. 节肢动物

- i. 称取 < 50mg 的样品，用液氮在研钵中研磨成粉末状；
注意：如果没有研钵，可以使用一次性研磨杵在离心管中进行研磨。
- ii. 将粉末转移到一个干净的 1.5mL 离心管中；
- iii. 接着步骤 2 进行操作。

B. 软体动物（或其他无脊椎软体动物）

- i. 称取 < 30mg 的样品，用液氮在研钵中研磨成粉末状；
注意：如果没有研钵，可以使用一次性研磨杵在离心管中进行研磨，加-50 到 70 目的白色石英砂会有所帮助。
- ii. 将粉末转移到一个干净的 1.5mL 离心管中；
- iii. 接着步骤 2 进行操作。

注意：起始的样品用量取决于样品类型。如果使用建议的 30mg 可以获得好的结果，可以适当增加样品量。为了便于处理样品，可以把样品量增加，但所有的溶液也要按照比例增加。在任何情况下，每个 HiBind® DNA Mini Columns 的处理量不应超过 50 mg，因为可能会超过结合柱的最大结合量 100 µg。困难的组织可能需要从 < 30mg 的组织量开始测试，并加倍所有的溶液体积，以确保完全裂解。

2. 加入 350 μL ML1 Buffer 和 25 μL Proteinase K Solution, 涡旋混匀;
3. 置于水浴锅中 60°C 孵育 30min 或直至样品完全裂解;
注意: 样品裂解时间取决于样品量以及类型, 通常不超过 4 小时, 或者在 37°C 孵育消化过夜。
4. 加 350 μL 氯仿/异戊醇 (24: 1), 涡旋混匀;
5. 常温最大速度(> 10,000xg)离心 2min 去除不溶解的杂质;
6. 转移上清液到新的 1.5mL 离心管中, 小心注意不要转移到任何沉淀;
注意: 该步骤将溶液中大量的多糖与蛋白质去除。如果离心后上层水相很少, 则需要再加入 200 μL ML1 Buffer, 涡旋混匀, 再次重复步骤 5-6。
7. 加入上清 1 倍体积的 MBL Buffer 和 10 μL RNase A, 涡旋 15s 混匀;
8. 70°C 孵育 10min;
9. 加入 1 倍上清体积的无水乙醇, 涡旋 15s 混匀;
注意: 例如: 500 μL 的上清, 加入 500 μL 的 MBL Buffer 和 500 μL 的无水乙醇。
10. 将 HiBind® DNA Mini Columns 套入收集管中;
可选柱平衡处理:
 - 1) 往空 HiBind® DNA Mini Column 内加入 100 μL 3M NaOH, 静置 4min;
 - 2) 室温下 13,000xg 离心 30-60s, 弃除滤液, 将 HiBind® DNA Mini Columns 套入收集管中。
11. 转移第 9 步得到的混合液到结合柱中 (每次转移的混合液 \leq 700 μL , 包含所形成的沉淀), 室温 12,000xg 离心 1min, 弃滤液;
12. 重复步骤 11, 直至步骤 9 所有混合液都结合到 HiBind® DNA Mini Columns 上;
13. 将 HiBind® DNA Mini Columns 套入收集管中, 加入 500 μL HBC Buffer (已加异丙醇正确稀释) 至结合柱中, 12,000xg 离心 30s, 弃滤液;
注意: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。
14. 将 HiBind® DNA Mini Columns 套回收集管中, 加入 700 μL DNA Wash Buffer (已加无水乙醇正确稀释) 至结合柱中, 12,000xg 离心 1min, 弃滤液;

注意：DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。

15. 重复步骤 13 进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤；
16. 将 HiBind® DNA Mini Columns 套回收集管中，12,000xg 离心空甩 2min；
17. 将 HiBind DNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 50-100 μ L 70°C 预热的 Elution Buffer 或无菌水或 10mM Tris (pH9.0) 至结合柱中，室温放置 2min，然后 12,000xg 离心 1min 洗脱 DNA；
18. 重复步骤 17 进行二次洗脱，产物放置 -20°C 保存。

注意：以下操作可以用来帮助提高 DNA 产量。

- 加入 Elution Buffer 后，孵育 5min。
- 增加 Elution Buffer 的洗脱体积。
- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱 (可以提高产量，但是会降低浓度)。
- 可以把第一次洗脱的产物重复加到结合柱上进行二次洗脱 (这可能会增加产量，同时不增加洗脱体积)。

★ 产品信息卡



更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司

技术支持：020-32051125

企业 QQ：800848200 (人工客服在线)

中文网站：omegabiotek.com.cn

如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取