

Version: AA4.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Marine Animal DNA Kit

海洋动物组织基因组DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA0501

01/产品组分

序号	组分	50 次 AA0501-A	50 次 AA0501-B
1	裂解液 SL	11 mL	11 mL
2	结合液 CB	11 mL	11 mL
3	抑制物去除液 IR	25 mL	25 mL
4	漂洗液 WB	15 mL 第一次使用前加入 60 mL 无水乙醇	
5	洗脱缓冲液 EB	15 mL	15 mL
6	蛋白酶 K 溶液 (20 mg/mL)	-	1 mL
7	吸附柱 AC	50 个	50 个
8	收集管 (2 mL)	50 个	50 个

02/保存条件

蛋白酶 K 溶液于-20°C保存; 其它组分室温 (15-25°C) 保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取各种海洋动物组织基因组 DNA, 可在 1 h 内完成单个或多个样本的提取工作。基于独特的结合液/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、离心步骤, 进一步将蛋白、多糖、多酚以及细胞代谢物等杂质去除, 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。

不同样本提取 DNA 的大致产量与纯度如下:

样本类型	样本量	DNA 平均产量	纯度 (OD260/OD280)
贝类组织	<30 mg	12-20 µg	1.7-1.9
虾组织	<30 mg	8-14 µg	1.7-1.9
鱼类组织	<30 mg	15-40 µg	1.7-1.9

04/自备材料

无水乙醇、异丙醇、RNase A

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25°C）下进行。
- ◇ 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°C 水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 结合液 CB 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 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瓶盖。
- ◇ 首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！

06/使用方案

1. 切取不多于 30 mg 的组织材料，放入装有 180 µL 组织裂解液 SL 的 1.5 mL 离心管中，涡旋振荡 15 s。
 - ▲ 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。如果裂解困难，可先用液氮研磨。
2. 加入 20 µL 的蛋白酶 K 溶液（20 mg/mL），立刻涡旋振荡充分混匀。将裂解物放置在 55°C 水浴 1-3 h 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 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 s。
 - ▲ 可选步骤：如果 RNA 残留较多，需要去除 RNA，可在完成步骤 2 后加 20 µL RNase A（25 mg/mL）溶液，振荡混匀，室温放置 5-10 min。
3. 加入 200 µL 结合液 CB，立刻涡旋振荡充分混匀，70°C 放置 10 min。
4. 冷却后加 100 µL 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），12,000 rpm（13,400×g）离心 60 s，弃废液。
 - ▲ 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 s 混匀。
6. 加入 500 µL 抑制物去除液 IR，12,000 rpm（13,400×g）离心 30 s，弃废液。

7. 加入600 μL 漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 \times g）离心30 s，弃废液，重复该步骤一遍。
8. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,000 rpm（13,400 \times g）离心2 min，尽量除去漂洗液。
9. 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50-100 μL 洗脱缓冲液EB（事先在65-70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热效果更好），室温放置3-5 min，12,000 rpm（13,400 \times g）离心1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm（13,400 \times g）离心1 min。
 ▲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 μL ，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。
10. DNA可以存放在2-8 $^{\circ}\text{C}$ ，如果要长时间存放，可以放置在-20 $^{\circ}\text{C}$ 。

07/流程简图



样本处理：切取不多于30 mg的组织材料、加入180 μL 组织裂解液SL
涡旋振荡15 s，如果裂解困难，可先用液氮研磨



裂解：20 μL 蛋白酶K（20 mg/mL）55 $^{\circ}\text{C}$ 水浴消化完全
20 μL RNase A（25 mg/mL）振荡混匀室温5-10 min（可选）
200 μL 结合液CB立刻涡旋振荡混匀，70 $^{\circ}\text{C}$ 10 min



结合：100 μL 异丙醇，立刻涡旋振荡混匀
将混合物加入吸附柱AC，13,400 \times g离心60 s



去抑制物：500 μL 抑制物去除液IR，13,400 \times g离心30 s
去盐离子：600 μL 漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！）
13,400 \times g离心30 s，两次



去残留乙醇：13,400 \times g空甩2 min



洗脱：50-100 μL 洗脱液EB（65-70 $^{\circ}\text{C}$ 预热）
室温静置3-5 min，13,400 \times g离心1 min，可重复洗脱一次
长期储存-20 $^{\circ}\text{C}$

08/相关产品

- AA1904-A RNase A (10 mg/mL)
- AA1904-B RNase A (100 mg/mL)
- AA1906 蛋白酶K (10 mg/mL)
- AC0204 SPARKeasy 软体动物RNA提取试剂盒
- EA0006 蛋白酶抑制剂混合物 (哺乳动物样品抽提用, 100×)
- AC0101 SparkZol Reagent
- AF0802 2×SparkHiFi Max Master Mix (with dye)
- AF0803 2×SparkHiFi Max Master Mix (without dye)

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

