昆虫 DNA 提取试剂盒

E.Z.N.A.® Insect DNA Kit

货号	D0926-00	D0926-01	D0926-02
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
CTL Buffer	3 mL	30 mL	80 mL
BL Buffer	3 mL	30 mL	120 mL
HBC Buffer	5 mL	25 mL	80 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	25 mL	3 x 25 mL
Elution Buffer	5 mL	30 mL	60 mL
Proteinase K Solution	150 μL	1.4 mL	4 x 1.4 mL
RNase A	12 μL	120 μL	450 μL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

1. 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℃；
2. Proteinase K Solution 室温可放置 12 个月，长期保存建议放置 2-8℃；
3. 当贮存温度较低时，CTL Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 65℃中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
4. 本试剂盒仅供科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 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
D0926-00	8 mL	2 mL
D0926-01	100 mL	10 mL
D0926-02	100 mL（每瓶）	32 mL

★ 提取步骤

用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 14,000xg 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 70℃的孵育装置
- ✓ 涡旋仪
- ✓ (可选）3M NaOH，无菌水或 10mM Tris（pH9.0）

1. 根据样品的类型，选用以下的方法准备样品。

   A. 昆虫

   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. 节肢动物（或其他无脊椎软体动物和植物样品）

   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 目的白色石英砂可帮助研磨破碎样品。

   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。建议先使用 30mg 样品，获得理想产量后再适当增加样品量。如需处理单次提取更大的样品量，可以在增加样品量的同时，把所用的溶液等比例增加。在任何情况下，每个 HiBind® DNA Mini Columns 的承载量不应超过 50 mg 样品，因为过多样品量可能会超过结合柱的最大结合量 100µg。困难的组织可能需要从 < 30mg 的组织量开始测试，同时加倍所有的溶液体积，以确保完全裂解。

2. 加入 350µL CTL Buffer 和 25µL Proteinase K Solution，涡旋混匀；

3. 于水浴锅中 60℃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，如有需要可在 37℃孵育消化过夜。

4. 加 350μL 氯仿/异戊醇（24：1）混合物，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 200μL CTL Buffer，涡旋混匀，再次重复步骤 5-6。
7. 加入上清 1 倍体积的 BL Buffer 和 2μL RNase A，涡旋 15s 混匀。
8. 70℃孵育 10min；
9. 加入等体积的无水乙醇，涡旋 15s 混匀；

   # 譬如：500μL 的上清，加入 500μL 的 BL Buffer 和 500μL 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 100μL 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≤700μL，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 500μL HBC Buffer（已使用异丙醇正确稀释）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 700μL DNA Wash Buffer（已使用无水乙醇正确稀释）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 14 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 干燥结合膜基质。
17. 将 HiBind DNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 50-100μL 70℃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

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源，请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒，我司恕不提供任何质量保证及售后服务。