

版本号: DP121221

TIANamp Feedstuff Animal DNA Kit

动物源性植物饲料

基因组DNA提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP323

产品内容

产品组成	DP323-02 (50 preps)	DP323-03 (200 preps)
缓冲液GA (Buffer GA)	30 ml	2 × 50 ml
缓冲液GB (Buffer GB)	30 ml	2 × 50 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	13 ml	52 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	15 ml	50 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	15 ml	60 ml
Proteinase K	1 ml	4 × 1 ml
吸附柱CB3 (Spin Columns CB3)	50个	200个
收集管 (2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50个	200个

选配试剂

RNase A (100 mg/ml) (目录号:RT405-12)。

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25℃) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37℃水浴中预热10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，可从多种动物源性植物饲料中提取基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。

使用本试剂盒提取的基因组DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR等实验。

产品特点

简单快速：1 h内即可获得超纯的基因组DNA。

广 泛：适用于动物源性植物饲料、多种动物细胞和动物组织等。

超 纯：获得的DNA纯度高，可直接用于PCR、酶切等分子生物学实验。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 若缓冲液GA或GB中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，并摇匀后使用。
 2. 所有离心步骤均为室温下离心。
-

操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 处理材料：

50 mg研磨粉碎的动物源性饲料加入320 μl 缓冲液GA，振荡至彻底悬浮。

注意：如果需要去除RNA，可加入4 μl RNase A（100 mg/ml）（客户自备，目录号：RT405-12）溶液，振荡15 sec，室温放置5 min。

2. 加入20 μl Proteinase K溶液，混匀。在65 $^{\circ}\text{C}$ 放置20-30 min，其间混匀样品2-3次。

3. 加入340 μl 缓冲液GB，充分颠倒混匀，65 $^{\circ}\text{C}$ 放置10 min，其间混匀样品2-3次。

注意：如果第2、3步中65 $^{\circ}\text{C}$ 温浴期间离心管底出现沉淀，请将沉淀振荡至彻底悬浮后再进行65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴操作。

4. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，取440 μl 上清至新管中。

注意：若所取上清中有可见悬浮颗粒，请重复步骤4一次，否则颗粒物质会堵塞吸附柱。

5. 向上清中加入220 μl 无水乙醇，充分颠倒混匀6-8次，此时可能会出现絮状沉淀。

注意：若所取上清体积小于或大于440 μl ，则无水乙醇应加到上清体积的1/2。例如：取500 μl 上清，加入250 μl 无水乙醇。

6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀全部加入一个吸附柱CB3中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm(~13,400 \times g)离心2 min，倒掉废液，将吸附柱CB3放回收集管中。

注意：离心时间请不要少于2 min，否则可能会导致吸附柱堵塞，如果离心时出现吸附柱堵塞情况时，请再次12,000 rpm(~13,400 \times g)离心2 min。

7. 向吸附柱CB3中加入500 μl 缓冲液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放回收集管中。

8. 向吸附柱CB3中加入600 μl 漂洗液PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱CB3放入收集管中。

9. 重复操作步骤8。

10. 将吸附柱CB3放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min，倒掉废液。将吸附柱CB3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。

11. 将吸附柱CB3转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200 μl 洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。

注意：为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱CB3中，室温放置2 min，12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。洗脱缓冲液体积不应少于50 μl ，体积小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用ddH₂O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}\text{C}$ ，以防DNA降解。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用ddH₂O，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。
