

Insect DNA Extraction Mini Kit

昆虫 DNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从 1~20mg 昆虫组织提取总 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 30~60 分钟。得到的 DNA 可直接用于 PCR, Southern Blot, 病毒 DNA 检测等实验。

产品组份

产品编号	DNI325-01	DNI325-02	DNI325-03
纯化次数	10 次	50 次	250 次
gDNA Extraction Mini Columns	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer IL	3 ml	15 ml	70 ml
Buffer GT	7 ml	30 ml	150 ml
Buffer W1A	4.4 ml	13 ml	66 ml
Buffer W2A	5 ml	20 ml	2 x 30 ml
Proteinase K	220 μ l	1.1 ml	5.5 ml
Buffer EB	1.5 ml	10 ml	60 ml

保存条件

本产品可在室温(15~25℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer IL 可能会有沉淀形成，需 55℃ 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- 水浴锅
- Buffer W1A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。
- Buffer W2A 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

1. 把 1~20mg 昆虫组织充分研磨，转移至 1.5ml 离心管中。加入 220 μ l Buffer IL 和 20 μ l Proteinase K，涡旋混匀。55 $^{\circ}$ C 温浴 30~60 分钟，期间颠倒混匀几次或振荡温浴。

研磨方法：可采用液氮研磨或加入消化液及钢珠后于研磨仪中研磨。

2. (可选：有未消化物质)13,000 x g 离心 3 分钟，转移上清至新的 1.5ml 离心管中。
3. 加入 500 μ l Buffer GT 至消化液中，涡旋混匀 15 秒。
4. 把 gDNA Extraction Mini Columns 装在 2ml 收集管中。转移第 3 步获得的混合液至柱子中。13,000 x g 离心 1 分钟。

若柱子出现堵塞，14,000 x g 离心 3~5 分钟。若混合液超过 750 μ l，分次过柱。

5. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer W1A 至柱子中。13,000 x g 离心 10 秒。
6. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600 μ l Buffer W2A 至柱子中。13,000 x g 离心 10 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600 μ l Buffer W2A 至柱子中。13,000 x g 离心 10 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000 x g 离心 2 分钟。

该步骤去除 DNA 柱中残留的乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应。当洗脱体积低于 50 μ l 时，该步骤结束后应打开 DNA 柱盖子于室温空气干燥 10 分钟后再进行洗脱，避免乙醇残留对酶促反应的影响。

9. 将柱子装在新的 1.5ml 离心管中。加入 30~100 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C 的 Buffer EB 至柱子的膜中央。放置 3 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
柱子最小的洗脱体积是 30 μ l，若对产量要求较高，推荐进行第二次洗脱，将洗脱液重新加至柱子膜中央，室温静置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。
10. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存 2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需放置于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多：**减少样品量。
- **样品消化不充分：**用液氮或玻璃匀浆器对样品进行研磨和匀浆，提高样品的消化效果。延长 Proteinase K 消化时间或过夜消化。
- **消化液存在不溶解的物质：**若样品消化后仍存在明显的颗粒，于 13,000 × g 离心 3 分钟去除未消化的物质。

2. DNA 产量低

- 参考柱子堵塞部分。
- **样品消化不充分：**延长消化时间让样品充分消化，用玻璃匀浆器对样品进行匀浆。
- Buffer W1A/W2A 没有加入乙醇稀释。
- **洗脱不充分：**洗脱液需加到膜中央，增加洗脱体积或次数。