

D0926 Insect DNA Isolation Kit

中文简易说明

√实验前请按说明书正确稀释以下试剂

➤ 使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
D0926-00	6mL
D0926-01	60mL
D0926-02	80mL (每瓶)

➤ 使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后室温保存

货号	加入量
D0926-00	1.2mL
D0926-01	10mL
D0926-02	32mL

提取步骤:

1. 对于保存在福尔马林中的昆虫样品，在实验前应用二甲苯和乙醇冲洗。注意，用福尔马林固定的组织的样品的提取量由样品保存的时间和大小决定。纯化的产物一般能够适用于 RCR 扩增，新鲜或冻存样品的产物能进行 Southern 分析。

A. 昆虫

用研钵和研杵在液氮中粉碎不超过 50mg 的样品组织，并将粉末转移到干净的 1.5mL 微量离心管中。如果没有陶瓷研钵和研杵，则使用一次性微管杵 (Omega Bio-Tek, Cat # SSI-1015-39 & SSI-1014-39) 将微量离心管中的样品匀浆化。继续按照下面的步骤 2 进行实验；

B. 节肢动物 (和其他软组织的无脊椎动物和植物样本)

用研钵和研磨液在液氮研磨不超过 30mg 的样品组织，并将粉末转移到干净的 1.5mL 微量离心管中。如果没有陶瓷研钵和研杵，则使用一次性微管杵 (Cat#SSI-1015-39 & SSI-1014-39) 将微量离心管中的样品均质化。添加一撮白色石英砂，-50 至 70 目 (Sigma Chemical Co.Cat No.S9887) 将有所帮助。继续按照下面的步骤 2 进行实验。

起始材料的量取决于样品，如果使用建议的 30mg 组织获得可接受的结果，则可以增加样品的用量。为了便于加工样品，可以按比例放大程序，并按比例增加所用缓冲液的体积。无论如何，加入每个 HiBind® 结合柱组织的量不超过 50mg，因为可能超过 DNA 结合容量 (100µg)。同时，对于困难提取的组织可能需要从少于 30mg 的组织开始，并将所用溶液体积加倍以确保充分的溶解。

2. 加入 350µl CTL Buffer 和 25µl Proteinase K (20mg/mL) 涡旋混匀，放入到 60°C 中孵育 30min 直至样品完全溶解。大多数样本消化不需要超过 4h，如果是难消化的样

第 1 页 共 2 页

品，可在 37°C 过夜消化。

3. 加入 350µl 氯仿：异戊醇 (24:1) 混合物，涡旋混匀，室温下 10,000xg 离心 2min，小心转移上清液至新的 1.5mL 离心管中；

Note: 该步骤能去除溶液中大部分的蛋白质与多糖杂质，调节核酸与柱子基质结合条件。如果离心后上层水相较少，可加入 200µl Buffer CTL，涡旋混匀，按上述条件离心后将上层水相转移到新的 1.5mL 离心管中；

4. 加入等体积的 Buffer CBL 和 2µl RNase A，最大速度涡旋混匀 15s，70°C 孵育 10min；

5. 加入等体积的无水乙醇，最大速度涡旋混匀 15s；

Tips: 如取得 500µl 的上清液，则加入 500µl 的 Buffer CBL 和 500µl 的无水乙醇。

6. 将 HiBind® DNA column 套入到 2mL 收集管中；

选做：柱平衡步骤

(1) 向 HiBind® DNA column 中加 100µl 3M NaOH；

(2) 室温静置 4min；

(3) 最大速度离心 20s；

(4) 弃滤液，将柱子重新套回到收集管中。

7. 加入 750µl 步骤 5 中的混合液，室温下，10,000xg 离心 1min，弃滤液；

8. 重复步骤 7，直至将步骤 5 中的混合液全部转移过柱；

9. 将 HiBind® DNA column 套回到 2mL 收集管中，加入 500µl HBC Buffer，10,000xg 离心 1min，弃滤液；

Note: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书加入异丙醇稀释。

10. 将 HiBind® DNA column 套入到新的 2mL 收集管中，加入 700µl DNA Wash Buffer，10,000xg 离心 1min，弃滤液；

Note: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

11. 重复步骤 10；

12. 将 HiBind® DNA column 套回到 2mL 收集管中，室温下，10,000xg 空柱子离心 2min 干燥；

Note: 对柱子的干燥能够去除残留的乙醇，否则将影响下游实验。

13. 将 HiBind® DNA column 套入到新的 1.5mL 离心管中，加入 50-100µl 在 60°C 预热的 Elution Buffer，室温静置 2min，10,000xg 离心 1min，洗脱 DNA；

14. (选做) 可另加 50-100µl Elution Buffer 进行二次洗脱。

中文翻译仅供辅助阅读，详情请以英文说明书为准