

昆虫组织基因组 DNA 提取试剂盒

(兼容低微量)

AT3018-01/02 使用说明书

产品简介

本试剂盒采用安全无毒的裂解液配方，应用特殊的裂解条件将昆虫组织中的 DNA 释放出来。整个提取过程安全、便捷，提取的基因组 DNA 纯度高，质量稳定可靠，可兼容低微量起始的昆虫样本提取。提取产物可进行多种下游应用，如 PCR、NGS 捕获测序、Real-time PCR、SNP 基因分析、STR 基因分析、药物基因组学研究等。

试剂盒组成

产品成分	AT3018-01 (50 次)	AT3018-02 (200 次)	保存条件
裂解液 KL	20 mL	80 mL	室温
缓冲液 TN	7.5 mL	30 mL	室温
蛋白酶 K	1 mL	4 mL	室温
洗脱液 TE	2.5 mL	10 mL	室温

注意事项

1. 试验前请仔细阅读本说明书，注意每个组分的保存温度，确保实验顺利完成；
2. 操作过程请注意避免样本之间的交叉污染；
3. 请使用 DNase/RNase-Free 的枪头、EP 管进行试验；

需自备试剂和耗材

无水乙醇，DNase/RNase-Free H₂O，RNase A (100 mg/ml)；各类移液吸头；1.5mL 离心管；

操作步骤

1. 样本处理
 - a. 乙醇保存虫体：小心取出昆虫放在滤纸上 2min，使乙醇挥发完全；
 - b. 冷冻保存可直接进入步骤 2；
2. 在 2ml 离心管中加入研磨珠 15 颗（二氧化锆），加入 400 μ l 昆虫裂解液 KL，再将昆虫装入管内，50-60Hz 研磨 180s；
3. 在研磨好的管内加入 10 μ l 蛋白酶 K（20mg/ml），混匀，58 $^{\circ}$ C 水浴过夜；
4. 第二天，在管内加入 5 μ l 蛋白酶 K（20mg/ml），混匀，58 $^{\circ}$ C 继续水浴 1-2h，瞬离，转上清至新的 1.5ml 离心管；
5. **（可选步骤）** 如果要去除 RNA，可以将样品中加入 2 μ l RNase A（100 mg/ml，客户自备），室温孵 2 min 后，进行下一步操作；
6. 在管内加入 150 μ l 缓冲液 TN，涡旋混匀；
7. 室温 \geq 12000rpm 离心 5min，小心吸取上清至 1.5ml 新管中，不要扰动下部沉淀；
8. 加入 2 倍体积预冷的无水乙醇，-80 $^{\circ}$ C 放置 30min；
9. 离心机提前预冷到 4 $^{\circ}$ C， \geq 12000rpm 离心 30min，小心移除上清，保留沉淀；
10. 加入 1ml 预冷的 70%乙醇， \geq 12000rpm 离心 3min，小心移除上清；
11. 重复步骤 10 一次；
12. 用 200 μ l 枪头小心移除残留乙醇，开盖晾干，直至管内壁无乙醇残留；
13. 加入 20-50 μ l 无核酶水或洗脱液 TE 溶解沉淀；
14. 根据要求测 Nanodrop 或者 Qubit，DNA 保存在-20 $^{\circ}$ C；

常见问题

Q1: DNA 产量低

A1: 样品消化不充分：外壳坚硬的昆虫样本可延长研磨时间；步骤 7 切勿吸到下部沉淀。

A2: 若是乙醇保存的样本，裂解前确保乙醇已经挥发完全。

A3: 裂解不充分：对于低微量起始的样本需保证足够的裂解时间，确保第二天再次加入蛋白酶 K，继续水浴 1-2h。

A4: 裂解时间过长：裂解时间过长可能导致 DNA 降解及产量低，裂解时间不超过 16h。

A5: 乙醇：无水乙醇提前预冷；70%提前预冷，现配现用。

A6: 沉淀不充分：加预冷无水乙醇沉淀时间最长可选取-20°C过夜，也可适当延长-80°C沉淀至 1h，最长不要超过 1h。

A7: DNA 沉淀溶解不充分：洗脱液需保证 pH 值在 7.5-8.5 之间，并提前预热。

A8: 蛋白酶 K 活性下降：使用保质期内的蛋白酶 K，超过保质期请更换试剂。

Q2: DNA 纯度不达标

A: 参考 1 和 2 中的解决方案。

Q3: RNA 残留

A: 加入 RNASE 处理: 加入 2~5 μ l RNase A 至消化液中，混匀后室温放置 2-15min。