

描述: 该试剂盒采用经典的萃取法进行基因组 DNA 提取, 因此获得的基因组 DNA 纯度高、产量稳定、实用性强。适用: 动物组织、细胞、细菌、病毒液、全血、血清、多糖含量不高的植物叶片、植物根、茎、种子、面粉、谷物等样品中提取基因组 DNA, 整个用时在 30min 内完成。提取效率高 (通常可获得 2-20 μg 的总产量), 获得的基因组 DNA 浓度约 10-80 $\text{ng}/\mu\text{l}$ 。应用本试剂盒获取的 DNA 纯度高, A260/A280 通常为 1.7-1.9。应用本试剂盒提取的 DNA 可直接用于限制性酶切反应、PCR、NGS 测序等多种分子生物学实验。

组分

组 分	4T	50T
RnaseA(5 mg/ml)	50 μl	550 μl
蛋白酶 K(10 mg/ml)	50 μl	550 μl
Universal PL11	1 ml	12 ml
Universal PL12	1 ml	12 ml
Universal PL13	1.2 ml	14 ml
氯仿替代物 B2	2.5 ml	30 ml
Washing Buffer(含乙醇)	5 ml	55 ml
Nuclease Free H ₂ O	0.5 ml	6 ml
吸附柱芯(NP30)	4 套	50 套
2 ml 吸附柱外套管	4 套	50 套
1.5 ml 收集管	4 套	50 套

注意事项与准备工作:

- 1.1 Washing Buffer 中含有 70%乙醇, 使用时远离火源。
- 1.2 氯仿替代物 B2 为管制品氯仿的替代物 (该溶液上层覆盖有水相, 使用时吸取下层红色油相), 沸点>150℃, 燃点>450℃, 毒性低于氯仿, 但仍建议在通风橱中使用。
- 1.3 Universal PL11-12-13 溶液有强烈的腐蚀性, 使用时务必做好防护, 防止灼伤皮肤和眼睛。如有发生, 立即用大量的清水冲洗, 并就医。溶液如有结晶或析出, 可于水浴锅 56℃ 放置 2~3min 后, 即可使用。
- 1.4 RnaseA 和蛋白酶 K 于 -20℃ 长期保存, 其它组分室温保存, 有效期为 2 年。

样本用量参考表

样品	用量	产量
动物组织	50~100 mg	10-30 μg
培养细胞	10e7	5-10 μg
抗凝全血	100 μl	5-10 μg
细菌、酵母	10e9	10-30 μg
新鲜根、茎、叶	100~150 mg	2-5 μg
新鲜种子	100~150 mg	4-10 μg
干燥种子	75~100 mg	5-20 μg
面粉类	75~100 mg	3-10 μg
含水量较大果肉类	100~150 mg	2-5 μg

2 操作方法 (样本准备)

- 2.1 机械钢珠研磨: 取 200~300 mg 样品加入 500 μl 的 ddH₂O, 研磨成浆液后 (不离心), 取 200 μl 浆液到 1.5 ml EP 管中。
- 2.2 液氮研磨: 取 75~150 mg 研磨样品加入到 1.5 ml EP 管中, 向样品中 200 μl 的 ddH₂O, 旋涡 10s, 做成组织悬液。
- 2.3 培养的细菌、酵母、细胞: 用 200 μl 的 ddH₂O 重悬后, 加入到 1.5 ml EP 管中。
- 2.4 病毒液、拭子液、灌洗液等液体样品: 直接吸取 200 μl 加入到 1.5 ml EP 管中, 体积不足时, 用 ddH₂O 补足。
- 2.5 抗凝全血、血清、血浆: 吸取 100 μl 加入到 1.5 ml EP 管中, 并加入 100 μl 的 ddH₂O, 旋涡 10s。

3 操作方法 (提取)

- 3.1 向上述样品悬液中, 加入 10 μl 的 RnaseA 和 200 μl 的 Universal PL11, 旋涡混合 15s, 水浴锅 56℃ 放置 10min 以消化样本中的 RNA (期间可震荡混合 2-3 次)。
- 3.2 向裂解物中加入 10 μl 的蛋白酶 K, 旋涡混合 15s, 水浴锅 56℃ 放置至少 10min。 (期间可混合 2-3 次)。
- 3.3 加入 200 μl 的 Universal PL12, 旋涡混合 15s。
- 3.4 向上述溶液中加入 500 μl 的氯仿替代物 B2 (下层红色油相) 旋涡混合 15s 后。将 1.5ml EP 管放入离心机, 13000rpm 离心 1min。此时, 溶液分层, 基因组 DNA 分布于上层无色水相中。
- 3.5 吸取 500 μl 的上层无色水相, 加入到吸附柱芯中, 并加入 250 μl 的 Universal PL13 (此时总体积 750 μl), 盖上吸附柱管盖, 上下混合 2-3 次。**注意: 此步骤务必混合均匀后, 再离心。**
- 3.6 将整套吸附柱放入离心机中, 13000rpm 离心 15s 后。可将外套管中的过柱液, 再次倒入到吸附柱芯中, 离心 15s (再次过柱, 会提高产量 25%, 对产量要求不高的情况下, 可忽略此步骤)。
- 3.7 倒掉外套管中的过柱液, 此时 DNA 已经吸附在柱芯上。向吸附柱芯中加入 500 μl Washing Buffer, 盖上管盖, 并上下颠倒 2~3 次 (进行柱芯和管壁洗涤), 放入离心机, 13000rpm 离心 10s。倒掉外套管中的废液。并重复此洗涤步骤一次。
- 3.8 将整套吸附柱重新放回离心机, 13000rpm 空离心 1min, 将吸附柱芯残留的乙醇彻底甩干。
- 3.9 将吸附柱芯从 2 ml 吸附柱外套管中取出, 并放入到新的 1.5ml 收集管中, 向吸附柱芯中加入 60~100 μl 的 Nuclease Free H₂O, 13000rpm 离心 1min, 洗脱液即为基因组 DNA, 冷冻保存。通常 DNA 的浓度为 10~80 $\text{ng}/\mu\text{l}$, OD260/280 约 1.7~1.9。