

**描述:** 组织微量基因组 DNA 提取试剂盒是一种可以快速从抗凝全血、动物组织、植物叶片、种子、小鼠尾部、单根毛发、细胞培养液、唾液、精液等样本中提取微量基因组 DNA 的试剂盒。使用该试剂盒可以在 12min 内完成基因组 DNA 提取, 整个操作过程不需要离心、有机溶剂等复杂抽提步骤。提取的基因组 DNA 可以直接用于 PCR 扩增、定量分析等实验。提取的基因组 DNA 置于 4 °C 至少保存 3 个月。

#### 组分

| 名称          | 40T    | 600T  |
|-------------|--------|-------|
| 5xDNA 释放液 A | 0.5 ml | 6 ml  |
| DNA 中和液 B   | 1.8 ml | 24 ml |

#### 注意事项

1.1 自备试剂: 5x3GTaq PCR Mix (A0601-00)或 G5U HiFi PCR Mix(A3208-02)。

1.2 DNA 释放液 A 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。

1.3 -20 °C 保存(5 年有效), 室温保存 (6 个月有效)。

样本量参考表

|         |              |
|---------|--------------|
| 动物组织    | 1~5 mg       |
| 新鲜叶片、种子 | 1~20 mg      |
| 细胞      | 100-10,000 个 |
| 唾液      | 20 $\mu$ l   |
| 毛发      | 1-3 根带毛囊毛发   |

#### 操作方法

2.1 样本量极少, 且无法研磨的块状组织

在 0.2 ml 的 EP 管中加入 40  $\mu$ l 的 ddH<sub>2</sub>O, 并加入 10  $\mu$ l 的 5xDNA 释放液 A (两者可提前混合), 共 50  $\mu$ l。取下述样品加入到该溶液中, 旋涡混合, 使液体覆盖样品。

动物组织、鼠尾等: 剪取 1-5 mg, 不要超过 5 mg(重要)。

新鲜叶片、种子等: 剪取 2-10 mg, 不要超过 10 mg(重要)。

毛发: 取 1-3 根带有毛囊(重要)的毛发。

2.2 液体样本, 或可以研磨、吹打成悬液的样本

培养细胞、细菌、唾液、腹水液、分泌物拭子的水液、抗凝全血或组织样本用水研磨的匀浆液: 吸取 40  $\mu$ l 到 0.2 ml 的 EP 管中 (样本不足 40  $\mu$ l 的用 ddH<sub>2</sub>O 补足), 并加入 10  $\mu$ l

的 5xDNA 释放液 A, 共 50  $\mu$ l。

2.3 将加有样品和 DNA 释放液的 EP 管, 置于 PCR 仪上 95°C 加热 10min。

2.4 加热结束后, 加入 40  $\mu$ l 的 DNA 中和液 B, 漩涡 5s。块状物较多时, 可短离心 10s, 上清液即为 PCR 扩增的 DNA 模板。

2.5 取上述所得溶液作为基因组模板, 进行 PCR 扩增

|                    |            |
|--------------------|------------|
| 5x3GTaq PCR Mix    | 10 $\mu$ l |
| 上游引物(10 $\mu$ M)   | 2 $\mu$ l  |
| 下游引物(10 $\mu$ M)   | 2 $\mu$ l  |
| 上述模板 DNA           | 2 $\mu$ l  |
| ddH <sub>2</sub> O | 34 $\mu$ l |

#### 3. 推荐的“万能 PCR 扩增参数”

|          |      | <1kb | 1-3kb | >3kb    |
|----------|------|------|-------|---------|
| 预变性      | 95°C | 2min | 2min  | 2min    |
| 循环 1     | 95°C | 15s  | 15s   | 15s     |
| 5 Cycle  | 65°C | 30s  | 1min  | 2kb/min |
| 循环 2     | 95°C | 15s  | 15s   | 15s     |
| 27 Cycle | 55°C | 15s  | 15s   | 15s     |
|          | 72°C | 30s  | 1min  | 2kb/min |
| 末延伸      | 72°C | 2min | 2min  | 5min    |

特殊说明: (1) 该“万能 PCR 扩增参数”在实际应用中, 引物 T<sub>M</sub> 值 (50-70°C) 范围内均获得良好的扩增。该程序扩增总循环数为 32 (5+27)。(2) 如果不能获得良好的扩增结果, 则可以改变, 循环 2 中的退火温度为 50-65°C (上表中为 55°C)。

4. 电泳: 1% 琼脂糖凝胶电泳, 上样 5  $\mu$ l, 电泳结束在紫外灯下检测条带。