

通用基因组 DNA 提取试剂盒使用说明书

规格：50T/ 100T

保存：室温(15℃-25℃) 干燥保存，复检期 12 个月，2℃-8℃保存时间更长。开封后请将 RNase A，蛋白酶 K 于-20℃保存。

试剂盒内容：	50T	100T
RNase A	1ml	1ml×2
蛋白酶 K	1ml	1ml×2
溶液 A	25ml	50ml
溶液 B	25ml	50ml
漂洗液	15ml	15ml×2
洗脱液	15ml	30ml
吸附柱	50 个	100 个
收集管	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

产品简介：

本试剂盒为通用型，适合于从土壤，粪便，昆虫，以及其他样本中提取基因组 DNA。对细菌，真菌，昆虫等样本都具有很好的裂解效果，最大限度的保留了生物 DNA 的多态性。

使用本试剂盒提取的 DNA 产量大、完整性好，可直接用于各种常规操作，包括酶切、PCR 、文库构建、Southern 杂交等实验。

操作步骤：

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1、样品的处理：

1) 土壤：称取 0.1-0.3g (根据干湿)土壤，放入研钵中，倒入适量的液氮，立即研磨，重复 3 次，使土壤颗粒研成粉末，加 500ul 溶液 A，振荡至彻底悬浮。

2) 粪便：称取 0.1-0.3g (根据干湿) 粪便，加 500ul 溶液 A，振荡至彻底悬浮。

3) 昆虫：称取 0.1-0.3g 昆虫，倒入适量的液氮，立即研磨，重复 3 次，使昆虫研成粉末，加 500ul 溶液 A，振荡至彻底悬浮。

4) 未知样品，如为细末状，可直接称取 0.1-0.3g(根据干湿)加 500ul 溶液 A，如为块状，可 0.1-0.3g 用液氮研磨成粉末，再加 500ul 溶液 A，振荡至彻底悬浮。

2、向悬浮液中加入 20ul 的 RNase A（10mg/ml），55℃放置 10min。

3、加入 20ul 的蛋白酶 K（10mg/ml），充分混匀，55℃水浴消化，30min。消化期间可颠倒离心管混匀数次，12000 转离心 10min。将上清转移到一个新的离心管中。如有沉淀，可再次离心。

- 4、加入 500ul 溶液 B，充分混匀。如出现白色沉淀，于 55℃放置 5min，沉淀即会消失，不影响后续实验。如溶液未变清亮，说明样品消化不彻底，可能导致提取的 DNA 量少及不纯，还有可能导致上柱后堵柱子，请增加消化时间。
- 5、加入 500ul 无水乙醇，充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀，不影响 DNA 的提取，可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中，放置 2min (分两次加入，每次 700ul)。
- 6、12000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 7、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
- 8、向吸附柱中加入 600ul 漂洗液，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中
- 9、12000rpm 离心 2min，将吸附柱置于室温或 50℃温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。
- 10、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 50-200ul 经 65℃水浴预热的洗脱液，室温放置 5min，12000rpm 离心 2min。
- 11、离心所得洗脱液再加入吸附柱中，室温放置 2min，12000rpm 离心 2min，即可得到高质量的基因组 DNA。

注意事项:

- 1、由于样品不同，最终提取的 DNA 含量和纯度也有所不同，一般来说，如果所提取 DNA 用电泳的方法检测不到，PCR 会有结果，样品尽可能的新鲜。否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
- 2、若试剂盒中的溶液出现沉淀，可在 65℃水浴中重新溶解后再使用，不影响提取效果。
- 3、如果样品消化不彻底，后面的离心步骤中可能会出现堵柱子的情况，可适当延长离心时间。
- 4、洗脱缓冲液的体积最好不少于 50ul，体积过小会影响回收效率；洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响，若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；DNA 产物应保存在-20℃，以防 DNA 降解。
- 5、DNA 浓度及纯度检测（浓度较高时）：得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50μg/ml 双链 DNA、40μg/ml 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。