通用型 DNA 提取试剂盒

使用手册

Ver:250506

◇产品编号：DN05

◇常温运输、保存（15-25℃）

◇本产品仅供科研使用

成都百菲特科技有限公司

一、产品概述：

本试剂盒使用独特的溶液体系，可以用于多种动、植物类型样本的DNA提取，可以提取小麦、水稻、玉米、大豆、番茄、土豆、茄子、辣椒、石斛、红薯、紫薯、葡萄、猕猴桃、无花果、柏树等叶片样本的DNA，也能提取猪、牛、鱼、猫、狗等动物组织的DNA，对于小麦种子、玉米种子、绿豆种子、小米种子、土豆块茎和部分大型真菌、菌丝体、部分真菌孢子也有较好的DNA提取效果，操作流程兼容多个品牌的自动化核酸提取仪。

通过本试剂盒可以得到较高分子量的 gDNA，完全满足二代测序或三代测序对长片段基因组DNA 的要求；DNA 纯度高，对后续建库、PCR 等酶反应过程几乎不会有抑制。

二、规格及组成：

组 分	DN05-50 (50 rxn)	DN05-100 (100 rxn)	DN05-96 (96 rxn)	保存条件
裂解液	50 ml	100 ml	100 ml	室温
结合液	25 ml	45 ml	45 ml	室温
漂洗液 1	60 ml	120 ml	120 ml	室温
漂洗液 2	60 ml	120 ml	120 ml	室温
DNA 洗脱液	10ml	10ml	10ml	室温
RNase A	0.75ml	1.5ml	1.5ml	-20℃
Proteinase K	0.75ml	1.5ml	1.5ml	-20℃
DNA beads	0.75ml	1.5ml	1.5ml	2-8℃
使用手册	1 份	1 份	1 份	

注意：RNase A 和 Proteinase K 可以在常温下短时间储存和运输，收货后可以在 2-8℃保存，长期保存建议-20℃。

三、注意事项：

1. 产品编号 DN05-96 产品中的各个溶液已预分装到 96 深孔板中，可以搭配自动化核酸提取仪实现自动化 DNA 提取，液体分装量如下：

溶液名称	板编号	分装体积	仪器对应位置
结合液+磁珠	1	450μl/孔+15μl/孔	1
漂洗液 1	2	600μl/孔	2
漂洗液 1	3	600μl/孔	3
漂洗液 2	4	600μl/孔	4
漂洗液 2	5	600μl/孔	5
DNA 洗脱液	6	100μl/孔	6

2. 装有与液体的板材在使用前需要低速离心，确保全部的溶液都在孔底部，然后撕去封膜。

四、使用方法 1：（自动化提取）

1. 对于植物组织样本，按以下流程进行操作：

取40-100mg植物叶片或其它容易破碎的真菌类样本，参照下述步骤将样本研磨至粉末状：

取适量新鲜叶片剪成5-10mm的碎片后，装入2ml研磨管，加入直径3-5mm的研磨珠，关闭盖子后在液氮中冷冻3-5min，然后迅速转移到组织研磨仪进行破碎。破碎后的样本呈粉末状，温度较低时呈浅绿色，此时依次加入800μl裂解液、15μl Proteinase K、15μl RNase A，立刻涡旋振荡混匀，样本和裂解液充分混匀后在室温静置15-20min。

样本数量较多时，裂解液、Proteinase K和RNase A可以按上述比例提前预混，对于每个样本加入830μl预混液即可，预混液根据样本数量现用现配。

当投入的样本过多，或某些样本会吸收大量水分（如干燥玉米、大豆），为保证后续可以正常吸取足够体积的上清液，可以适当增加裂解液的用量（最多1000μl），Proteinase K和RNase A的用量仍为15μl。

注意：a.由于液氮冷冻后的样本温度非常低，加入裂解液后，粉末和液体的接触面可能会出现结冰的现象，不利于样本的混匀，需要用涡旋振荡仪振荡至样本完全分散在裂解液中，否者部分样本在未接触裂解液的情况下解冻也可能会引起DNA降解。

b.如果样本数量较多，研磨成粉的样本可以连同研磨管一起平放在干冰上暂存。如果需要将研磨好的样本再放回液氮中暂存，需要注意研磨管在液氮中长时间浸泡后，液氮有可能从盖子缝隙处渗入，当在室温下操作研磨管时，研磨管中的液氮会快速汽化膨胀，极易引起研磨管炸裂，若经常出现这种情况，需要使用密封性更好的研磨管。

对于动物组织、不方便进行研磨的真菌，按以下流程操作：

对于动物组织取15-30mg样本，对于真菌取30-60mg样本，用剪刀将样本尽可能剪碎，转入2ml离心管，然后加入800μl裂解液、15μl Proteinase K，在56℃进行消化，消化期间每隔15-20min将离心管颠倒混匀数次，直至样本完全溶解，没有肉眼可见的颗粒状样本。消化过程通常需要几个小时，使用恒温振荡金属浴可以促进组织细胞更快地裂解和消化，如果加入的样本过多，可以进行过夜消化。消化结束后再加入15μl RNase A，继续消化15min即可进行后续操作。

2. 装有样品的离心管在12,000×g离心3-5min，沉淀细胞碎片。

3. 转移450μl上清液到装有结合液的96孔板中，避免吸入底部杂质。

4. 根据所使用的核酸提取仪器，安装好磁棒套，在对应的板位上放置相应的溶液，运行程序。

5. 仪器提取参数设置示例：

序号	步骤名称	溶液	板位	体积（μl）	混合时间（min）	混合速度（1-10）	磁吸时间（min）	等待时间（min）	温度
1	结合	结合液	1	900	3	7	2	1	OFF
2	漂洗1	漂洗液1	2	600	2	7	2		OFF
3	漂洗2	漂洗液1	3	600	2	7	2		OFF
	漂洗3	漂洗液2	4	600	2	7	2		OFF
	漂洗4	漂洗液2	5	600	2	7	2		OFF
4	干燥		5	600	0		0	3	OFF
5	洗脱DNA	DNA 洗脱液	6	100	5	8	3		65℃

注意：自动化程序可以根据设备情况和DNA提取效果进行适当调整。

6.程序运行结束后，装有洗脱液的板中即为提取的DNA，可以在-20℃长期保存。

五、使用方法 2：（手工操作）

1. 参照上述步骤 1 和步骤 2，完成对应的裂解和离心操作。

7. 转移700μl上清液到新的1.5ml离心管中，依次加入700μl 结合液和 15ul DNA beads，涡旋混匀30秒，室温下结合5min。

8. 然后将离心管放置到磁力架上静置2-3min，待溶液澄清后吸弃上清液。

9. 加入600ul 漂洗液1，取下离心管，涡旋混匀30秒，上磁力架吸磁1-2min，待溶液澄清后吸弃上清液，重复此操作1次，累计漂洗2次。

10.加入600ul 漂洗液2，取下离心管，涡旋混匀30秒，上磁力架吸磁1-2min，待溶液澄清后吸弃上清液，重复此操作1次，累计漂洗2次。

11.保持离心管在磁力架上，在室温下晾干磁珠，当磁珠表面无明显光泽时，取下离心管。

加入50-100ulDNA 洗脱液，涡旋混匀 30 秒，让磁珠完全分散到溶液中，确保无颗粒状的磁珠残留，在 60℃加热 5min 后，将离心管置于磁力架上静置 1-2min，转移上清液到新的 1.5ml 离心管中，即得到纯化后的 DNA 溶液，可以在-20℃长期保存。