

## DNA 纯化试剂盒检验方法

### 一、目的

通过对 DNA 的清洁，以及对获得的 DNA 的各项指标的测试，判断送检的产品是否符合质量要求。

### 二、材料、试剂及仪器

(1) 材料：送检 DNA 纯化试剂盒、对照其他批次的试剂盒、1.5ml 离心管若干。

(2) 仪器：微量紫外分光光度计、电泳仪、电泳槽、移液器、台式离心机。

### 三、DNA 纯化操作步骤

按每管 50  $\mu\text{l}$  的体积分出 4 管 DNA 样本（50bp、100bp、250bp、500bp、750bp、1kb 条带加上 2k 质粒的混合 DNA），按照说明书中的操作步骤，用送检试剂盒和对照试剂盒同步平行各自抽提 2 管 DNA。最终 DNA 用 50  $\mu\text{l}$  Buffer TE 洗脱。

### 四、纯化的 DNA 纯度检测步骤

在微量紫外分光光度计上用 Buffer TE 调零，取 2  $\mu\text{l}$  洗脱的 DNA 检测，记录各个波长的吸光度。

### 五、酶切检测操作步骤

1. 取一个 0.2 ml 离心管，加入 1  $\mu\text{l}$  HindIII，2  $\mu\text{l}$  Buffer，17  $\mu\text{l}$  纯化的 DNA，混合均匀。

2. 稍离数秒，使液体聚集到离心管底部，37 $^{\circ}\text{C}$  酶切 2 h。

3. 按内容六进行电泳检测。

### 六、电泳检测操作步骤

在 1% 琼脂糖凝胶上，按下表依次加入纯化后的 DNA，电泳结束后在紫外灯下观察并记录分析结果。

电泳加样顺序：

	起始 DNA (75%)	检 验 1	检 验 2	对 照 1	对 照 2	起始 DNA (100%)	检 验 1 (酶 切)	检 验 2 (酶 切)	对 照 1 (酶 切)	对 照 2 (酶 切)
DNA/ 酶 切产物	6 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$	8 $\mu\text{l}$
6 $\times$ Loading Buffer	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$	2 $\mu\text{l}$

### 七、质量要求与判断方法

1. 试剂盒外观必须无破损、污渍；试剂盒组成必须与说明书对应一致；试剂盒标签内容必须与送检单相符。
2. 送检试剂盒纯化得到的 DNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 数值必须在 1.8 $\pm$ 0.15 范围内。
3. 送检试剂盒纯化得到的 DNA OD<sub>260</sub>/OD<sub>230</sub> 数值必须 $\geq$ 1.8。
4. 送检试剂盒回收到的 DNA 经电泳检测，酶切后的 DNA 条带清晰无拖尾，肉眼目测各片段 DNA 的亮度均 $\geq$ 75%起始 DNA 的亮度。
5. 送检试剂盒与对照试剂盒测得的各项指标的差异必须小于 $\pm$ 10%。

以上任何一项不符合要求即判断为不合格产品。