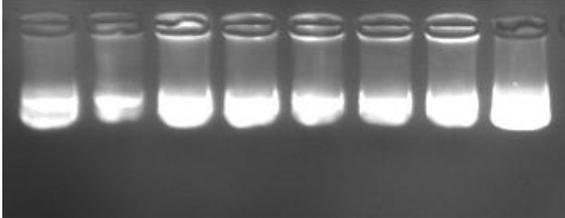


实验 2：从 160g 花生油的提取 DNA，两种方法对比

- **样品：**取 160g 花生油，加入 15ug 大豆 DNA (400ul)，充分混匀放置过夜。
- **方案 A，萃取油品中的 DNA：**取 160g 油分装至 4 个 50ml 离心管中，每管加入 4.5ml Buffer ATL 至油中，快速颠倒混匀让溶液完成混匀，室温放置 10 分钟，其间颠倒混匀 2 次。加入 1.5ml Buffer PS 涡旋混匀 1 分钟，8000rpm 离心 15 分钟，离心后形成三层结构，中间层为紧密的白色层，用 5ml 离心枪吸弃上层油层，最后用 1ml 移液枪吸取下层的 DNA 溶液至新的离心管中，合并 4 管水相至 50ml 离心管，总共得到 20ml 水相。
- **方案 B，萃取油品中的 DNA：**取 160g 油分装至 4 个 50ml 离心管中，每管加入 2ml Buffer ATL 至油中，快速颠倒混匀让溶液完成混匀。加入 1ml Buffer PPB，涡旋混匀，室温放置 10 分钟，其间颠倒混匀 2 次。加入 3ml Buffer PPC 涡旋混匀 1 分钟，8000rpm 离心 15 分钟，离心后形成三层结构，中间层为紧密的白色层，用 5ml 离心枪吸弃上层油层，最后用 1ml 移液枪吸取下层的 DNA 溶液至新的离心管中，合并 4 管水相至 50ml 离心管，总共得到 20ml 水相。
- **纯化步骤：**取上述的得到的萃取液，加入 150ul MagPure Particles 至上清液，混匀。加入 0.9 倍上清液体积的异丙醇，颠倒混匀 10~15 次，水平放置于摇床，280rpm 振荡混匀 1 小时。3,000 x g 离心 5 分钟沉淀收集磁珠，倒弃溶液。加入 1.8ml 80%乙醇，涡旋重悬磁珠，转移至 2.0ml 离心管中，磁力架吸磁，倒弃或吸弃溶液，重复用 1.8ml 80%乙醇清洗磁珠总共三次。短暂离心收集液滴并吸尽残液，65°C 烘干 20 分钟。加入 100ul Elution Buffer，65°C 振荡温育 5 分钟，短暂离心磁力架吸磁 1 分钟，把 DNA 溶液（实得~60ul）转移至新的离心管中。
- **结果分析**

样品名称	核酸 (ng/ul)	260/280	260/30	核酸总量 ug	回收率	电泳图
方案 A	183.7	1.83	1.90	9.2	61%	
	264.6	1.85	2.01	13.2	88%	
	221.9	1.83	1.84	11.1	74%	
方案 B	193.6	1.85	1.51	9.7	65%	
	181.0	1.82	1.47	9.0	60%	
	215.2	1.82	1.42	10.8	72%	

由上述表格，使用方案 A 或方案 B (Promega FF3750) 都可以高效地从油品中萃取 DNA，由于油品中 DNA 含量太低，从文献来看，160g 油品一般只含有 50-200ng 的 DNA，可满足数次的 PCR 检测。本文为了验证流程的合理性，核酸的回收率和核酸纯度，在 160g 花生油中接种 15ug 大豆 DNA 来分析，并对比方案 A 和方案 B 来萃取油相 DNA，结果表明，该方法可以得到高纯度 DNA，回收率高达 60% 以上。处理 160g 油品时，萃取后的体积比较大，约 20ml。为保证 DNA 的足够的回收率，磁珠用量为 150-200ul，大量的磁珠比较难于干燥，建议在 65°C 烘干磁珠。