# (19)中华人民共和国国家知识产权局



# (12)发明专利申请



(10)申请公布号 CN 109797148 A (43)申请公布日 2019.05.24

(21)申请号 201910107329.0

(22)申请日 2019.02.02

(71)申请人 深圳清华大学研究院 地址 518051 广东省深圳市南山区科技园 高新南七道19号清华研究院

申请人 安序源生物科技(深圳)有限公司

(72)发明人 何筠 张琦文 田晖

(74)专利代理机构 广州华进联合专利商标代理 有限公司 44224

代理人 潘霞

(51) Int.CI.

C12N 15/10(2006.01)

权利要求书1页 说明书7页 附图2页

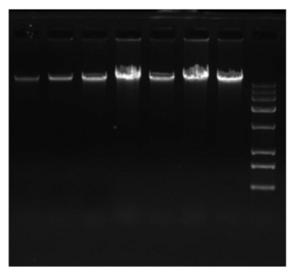
#### (54)发明名称

DNA提取试剂、DNA的提取方法及DNA提取试剂盒

#### (57)摘要

本发明涉及一种DNA提取试剂、DNA的提取方法及DNA提取试剂盒。该DNA提取试剂包括裂解液及除杂剂,裂解液包括终浓度为1M~5M的异硫氰酸胍、终浓度为0.01M~0.2M的Tris-HC1和最终质量体积百分数为1%~10%的N-月桂酰肌氨酸;除杂剂包括交联聚乙烯基吡咯烷酮及聚乙烯基吡咯烷酮中的至少一种。上述DNA提取试剂中的裂解液与除杂剂能够相互配合,能够减少DNA在提取制备过程中的降解,且提高DNA的纯度,使用上述DNA提取试剂制备得到的DNA能够满足宏基因组测序的要求。

1 2 3 4 5 6 7 M



- 1.一种DNA提取试剂,其特征在于,包括裂解液及除杂剂,所述裂解液包括终浓度为1M~5M的异硫氰酸胍、终浓度为0.01M~0.2M的Tris-HC1和最终质量体积百分数为1%~10%的N-月桂酰肌氨酸;所述除杂剂包括交联聚乙烯基吡咯烷酮及聚乙烯基吡咯烷酮中的至少一种。
- 2.根据权利要求1所述的DNA提取试剂,其特征在于,所述裂解液还包括缓冲液,所述缓冲液选自磷酸盐缓冲液及HEPES缓冲液中的一种。
  - 3.一种DNA提取试剂盒,其特征在于,包括权利要求1或2所述的DNA提取试剂。
- 4.根据权利要求3所述的DNA提取试剂盒,其特征在于,还包括TENP缓冲液、TE缓冲液及 洗涤液中的至少一种。
- 5.根据权利要求4所述的DNA提取试剂盒,其特征在于,其中,所述洗涤液包括第一洗涤液及第二洗涤液,所述第一洗涤液包括终浓度为0.01M~0.5M的磷酸盐及0.5M~2M乙酸钾; 所述第二洗涤液包括终浓度为3M~5M乙酸钠。
  - 6.一种DNA的提取方法,其特征在于,包括以下步骤:

用裂解液裂解样本,得到待纯化液,所述裂解液包括终浓度为1M~5M的异硫氰酸胍、终浓度为0.01M~0.2M的Tris-HC1和最终质量体积百分数为1%~10%的N-月桂酰肌氨酸;及

用除杂剂处理所述待纯化液,得到DNA粗产物,其中,所述除杂剂包括交联聚乙烯基吡咯烷酮及聚乙烯基吡咯烷酮中的至少一种。

- 7.根据权利要求6所述的DNA的提取方法,其特征在于,所述用裂解液裂解样本的步骤中,所述样本与所述裂解液的体积之比为1:2~8。
- 8.根据权利要求6所述的DNA的提取方法,其特征在于,所述用裂解液裂解样本,得到待 纯化液的步骤包括:

将所述样本与所述裂解液混合,并在56℃~95℃孵育,得到孵育液;及

将所述孵育液研磨,得到所述待纯化液。

- 9.根据权利要求6~8任一项所述的DNA的提取方法,其特征在于,在所述用裂解液裂解 样本的步骤之前,还包括用生理盐水或者磷酸盐缓冲液清洗样本以对所述样本进行预处理 的步骤。
- 10.根据权利要求6~8任一项所述的DNA的提取方法,其特征在于,在所述用除杂剂处理所述待纯化液,得到DNA粗产物的步骤之后,还包括用第一洗涤液及第二洗涤液处理所述DNA粗产物,得到纯化后的DNA的步骤;其中,所述第一洗涤液包括终浓度为0.01M~0.5M的磷酸盐及0.5M~2M乙酸钾;所述第二洗涤液包括终浓度为3M~5M乙酸钠。

# DNA提取试剂、DNA的提取方法及DNA提取试剂盒

## 技术领域

[0001] 本发明涉及生物技术领域,特别是涉及一种DNA提取试剂、DNA的提取方法及DNA提取试剂盒。

# 背景技术

[0002] 人类健康与人体表面及器官中微生物的数量及种类存在着密切关系,尤其是肠道微生物,在人类健康方面扮演着重要角色。近年来的大量研究发现了人体肠道内的多种微生物在免疫、发育、炎症、代谢疾病、精神障碍以及癌症等疾病中发挥着重要作用,对肠道微生物群的研究可以帮助我们预防、诊断并最终治愈或抑制这类疾病。

[0003] 粪便样品作为肠道微生物研究来源之一,取样方便且无创。但人类粪便复杂,存在纤维、微生物、未消化的颗粒、核酸酶和人体脱落细胞等,从粪便中去除纤维和未消化的颗粒比较困难,进而影响被分析的宏基因组DNA的总体质量和数量。此外,这些杂质的存在也影响微生物细胞的有效裂解。若样品中微生物裂解不充分,会使高通量测序结果出现偏差,最终影响被测样品中微生物多样性。因此,粪便中的DNA的提取对揭示肠道菌群多样性至关重要。

[0004] 目前进行宏基因组测序研究时往往需要基因组完整、DNA的纯度高。但是目前的商业提取试剂盒和传统的酚氯仿抽提法均有其缺陷,例如目前的商业提取试剂盒大部分为柱提取法,离心过滤时产生剪切力会使DNA降解严重,DNA产量低,难以达到宏基因组测序要求,且成本高;传统的酚氯仿抽提法得到的DNA纯度较低,影响后续PCR、高通量测序等。

#### 发明内容

[0005] 基于此,有必要提供一种能够减少DNA降解且提高DNA纯度的DNA提取试剂。

[0006] 一种DNA提取试剂,包括裂解液及除杂剂,所述裂解液包括终浓度为1M~5M的异硫氰酸胍、终浓度为0.01M~0.2M Tris-HC1和最终质量体积百分数为1%~10%的N-月桂酰肌氨酸;所述除杂剂包括交联聚乙烯基吡咯烷酮及聚乙烯基吡咯烷酮中的至少一种。

[0007] 上述DNA提取试剂中的裂解液与除杂剂能够相互配合,能够减少DNA在提取制备过程中的降解,且提高制备得到的DNA的纯度,制备得到的DNA能够满足宏基因组测序的要求。

[0008] 此外,还提供一种能够减少DNA降解且提高DNA的纯度的DNA提取试剂盒及DNA提取方法。

[0009] 一种DNA提取试剂盒,包括上述DNA提取试剂。

[0010] 一种DNA的提取方法,包括以下步骤:

[0011] 用裂解液裂解样本,得到待纯化液,所述裂解液包括终浓度为1M~5M的异硫氰酸胍、终浓度为0.01M~0.2M Tris-HC1和最终质量体积百分数为1%~10%的N-月桂酰肌氨酸;及

[0012] 用除杂剂处理所述待纯化液,得到DNA粗产物,其中,所述除杂剂包括交联聚乙烯基吡咯烷酮及聚乙烯基吡咯烷酮中的至少一种。

# 附图说明

[0013] 图1为实施例1及实施例2的电泳图:

[0014] 图2为实施例3的电泳图;

[0015] 图3为实施例4的电泳图;

[0016] 图4为实施例5的电泳图。

## 具体实施方式

[0017] 为了便于理解本发明,下面将参照相关附图对本发明进行更全面的描述。附图中给出了本发明的部分实施例。但是,本发明可以以许多不同的形式来实现,并不限于本文所描述的实施例。相反地,提供这些实施例的目的是使本发明公开内容更加透彻全面。

[0018] 除非另有定义,本文所使用的所有的技术和科学术语与属于本发明的技术领域的技术人员通常理解的含义相同。本文中在本发明的说明书中所使用的术语只是为了描述具体的实施例的目的,不是旨在于限制本发明。

[0019] 本发明一实施方式提供了一种DNA提取试剂,该提取试剂包括裂解液及除杂剂,裂解液包括终浓度为1M~5M的异硫氰酸胍、终浓度为0.01M~0.2M Tris-HC1和最终质量体积百分数为1%~10%的N-月桂酰肌氨酸;除杂剂包括交联聚乙烯基吡咯烷酮及聚乙烯基吡咯烷酮中的至少一种。

[0020] 上述DNA提取试剂中的裂解液与除杂剂能够相互配合,能够减少DNA在提取制备过程中的降解,且提高制备得到的DNA的纯度,使用上述DNA提取试剂制备得到的DNA能够满足宏基因组测序的要求。

[0021] 本发明一实施方式还提供了一种DNA提取试剂盒,该DNA提取试剂盒包括上述DNA提取试剂。

[0022] 具体地,上述DNA提取试剂盒还包括TENP缓冲液、TE缓冲液及洗涤液中的至少一种。

[0023] 当然,在一些实施例中,上述DNA提取试剂盒也可以不包括TENP缓冲液、TE缓冲液或/及洗涤液,此时使用者自行配制即可。

[0024] 上述DNA提取试剂盒中的裂解液与除杂剂能够相互配合,能够减少DNA在提取制备过程中的降解,且提高制备得到的DNA的纯度,使用上述DNA提取试剂制备得到的DNA能够满足宏基因组测序的要求。

[0025] 本发明一实施方式还提供了一种DNA的提取方法,包括以下步骤:

[0026] 步骤S110、将样本预处理,得到待裂解样本。

[0027] 具体地,用生理盐水或者磷酸盐缓冲液清洗样本。进一步地,将样本与5倍~10倍样本体积的生理盐水混合、1000rpm/min~5000rpm/min离心、取上清,然后10000rpm/min~12000rpm/min离心弃上清,取沉淀,然后加入PBS混匀,1000rpm/min~5000rpm/min离心,取上清液10000rpm/min~12000rpm/min的离心弃上清,得到待裂解样本。通过生理盐水或者磷酸盐缓冲液的清洗及多次不同转速的离心处理,能够将样本中的一部分非细胞成分(比如纤维)除去。在本实施方式中,样本为粪便样本。

[0028] 步骤S130、用裂解液裂解样本,得到待纯化液,裂解液包括终浓度为1M~5M的异硫氰酸胍、终浓度为0.01M~0.2M的Tris-HC1和最终质量体积百分数为1%~10%的N-月桂酰

肌氨酸。

[0029] 具体地,将样本与裂解液混合,然后在56℃~95℃孵育0.5小时~1.5小时,得到孵育液;接着将孵育液研磨,得到待纯化液。样本与裂解液的体积之比为1:2~8。优选地,样本与裂解液的体积之比为1:4或1:6。进一步地,研磨时加入助磨剂,比如玻璃珠,协作研磨,加快细胞裂解。

[0030] 在其中一个实施例中,裂解液中异硫氰酸胍的终浓度为2M~4M。进一步地,裂解液中异硫氰酸胍的终浓度为3M或4M。裂解液中Tris-HC1的终浓度为0.05M~0.1M,Tris-HC1的pH为7.5~8.0。进一步地,裂解液中Tris-HC1的终浓度为0.05M、0.1M。裂解液中N-月桂酰肌氨酸的最终质量体积百分数为2%~5%。进一步地,裂解液中N-月桂酰肌氨酸的最终质量体积百分数为3%或4%。

[0031] 进一步地,裂解液还包括缓冲液,缓冲液选自磷酸盐缓冲液及HEPES缓冲液中的一种。当然,在一些实施例中,裂解液也可以不包括缓冲液,此时使用者自行配制缓冲液之后与上述DNA提取试剂中的异硫氰酸胍、Tris-HC1和N-月桂酰肌氨酸混合,只要配制后的裂解液中的异硫氰酸胍、Tris-HC1和N-月桂酰肌氨酸的终浓度如上述即可。

[0032] 步骤S150、用除杂剂处理待纯化液,得到DNA粗产物,其中,除杂剂包括交联聚乙烯基吡咯烷酮及聚乙烯基吡咯烷酮中的至少一种。

[0033] 具体地,将除杂剂与待纯化液混合,然后离心,取上清,得到DNA粗产物。除杂剂的质量与待纯化液的体积比为10mg~60mg:1000μL。优选地。除杂剂的质量与待纯化液的体积比为15mg~30mg:1000μL。进一步地,除杂剂的质量与待纯化液的体积比为15mg:1000μL、20mg:1000μL。

[0034] 在人的粪便中存在大量的肠道微生物、未消化的食物残渣、消化酶、脂类物质、蛋白质、RNA、多糖、植物次生代谢物等。PVPP(交联聚乙烯基吡咯烷酮)及PVP(聚乙烯基吡咯烷酮)能够减少酚类、醌类及丹宁类物质对DNA纯度的影响。PVPP及PVP能络合多酚物质,有效防止多酚物质氧化成醌类,避免溶液变褐。

[0035] 在其中一个实施例中,在将除杂剂与待纯化液混合,然后离心,取上清的步骤之后,还包括洗涤离心之后的沉淀的步骤。通过离心洗涤沉淀,能够提高DNA的回收率。具体地,将离心之后的沉淀用TENP缓冲液进行洗涤,然后离心,合并上清,得到DNA粗产物。TENP缓冲液包括终浓度为10mM~100mM的Tris(pH8.0)、终浓度为10mM~50mM的EDTA(pH8.0)、终浓度为50mM~500mM的NaC1及最终质量体积百分数为1%~6%的PVPP。进一步地,TENP缓冲液包括终浓度为20mM~50mM的Tris(pH8.0)、终浓度为10mM~20mM的EDTA(pH8.0)、终浓度为100mM~200mM的NaC1及最终质量体积百分数为1%~6%的PVPP。

[0036] 在其中一个实施例中,除杂剂包括交联聚乙烯基吡咯烷酮或聚乙烯基吡咯。

[0037] 步骤S170、用洗涤液处理DNA粗产物,得到纯化后的DNA。

[0038] 具体地,洗涤液包括第一洗涤液及第二洗涤液。第一洗涤液包括终浓度为0.01M~0.2M的磷酸盐及终浓度为0.5M~2M的乙酸钾。第二洗涤液包括终浓度为3M~5M的乙酸钠。第一洗涤液有助于去除蛋白质。第二洗涤液有助于沉淀DNA,使得DNA与其他杂质分离。进一步地,第一洗涤液包括终浓度为0.05M~0.1M的磷酸盐及终浓度为1M~1.5M的乙酸钾。优选地,第一洗涤液包括终浓度为0.05M或0.1M的磷酸盐,和终浓度为1M或1.5M的乙酸钾。第二洗涤液包括终浓度为3M或4M的乙酸钠。

[0039] 在其中一个实施例中,将异丙醇与DNA粗产物混合、离心沉淀DNA,以去除蛋白。然后并将含有DNA的沉淀与第一洗涤液混合,然后再次离心以进一步使得蛋白沉淀而去除DNA中的蛋白。然后取上清,加入第二洗涤液和无水乙醇,-20℃放置大于8小时,促使DNA沉淀,以去除DNA中的蛋白等杂质。接着用70%乙醇去除DNA中的阳离子,得到纯化后的DNA。进一步地,在用第一洗涤剂及第二洗涤剂清洗DNA的期间,还包括加入RNase的步骤。

[0040] 上述DNA的提取方法操作简便,相对试剂盒提取成本很低,能够减少DNA降解,得到的DNA纯度高,能够满足宏基因组测序的要求。

[0041] 具体实施例

[0042] 以下结合具体实施例进行详细说明。以下实施例,如未特殊说明,则不包括除不可避免的杂除不可避免的杂质外的其他组分。实施例中采用药物和仪器如非特别说明,均为本领域常规选择。实施例中未注明具体条件的实验方法,按照常规条件,例如文献、书本中所述的条件或者生产厂家推荐的方法实现。

[0043] 需要说明的是,实施例1~实施例5的粪便样品均来自同一人的同一批次粪便。

[0044] 实施例1

[0045] 分别称取三份来自同一个人的粪便样品,每份200mg,每份粪便样品进行如下操作:

[0046] (1) 预处理:将粪便样品与5倍体积生理盐水混合,涡旋振荡混匀,4℃条件下2000rpm/min的速度离心2min,取上清液弃沉淀,然后4℃条件下10000rpm/min的速度离心1min,弃上清,保留离心后的沉淀。接着在沉淀中加入1mL PBS (pH 7.4),涡旋振荡混匀,4℃条件下2000rpm/min的速度离心2min,取离心后的上清液弃沉淀;接着将离心后的上清液在4℃条件下10000rpm/min的速度离心1min,弃上清,保留沉淀,此时沉淀为纯化后微生物细胞,为待裂解样本。

[0047] (2) 裂解液裂解样本:在步骤(1) 得到的待裂解样本中加入800μL裂解液,涡旋振荡混匀,70℃孵育1小时。其中,裂解液由终浓度为4M的异硫氰酸胍、终浓度为0.1M的Tris-HC1、最终质量体积百分数为3%的N-月桂酰肌氨酸及终浓度为0.1M,pH8.0的磷酸盐缓冲液组成。在孵育后,加入750mg 0.1mm玻璃珠,涡旋振荡后-30℃低温研磨5分钟,暂停10分钟,继续研磨5分钟,得到待纯化液。

[0048] (3) 用除杂剂处理待纯化液:在步骤(2) 得到的待纯化液中加入15mg PVPP,涡旋震荡混匀,在4℃14000rpm条件下离心5min,取上清取出置于新的2mL离心管并将离心管放冰上。然后在离心后的沉淀中加入500μL TENP缓冲液,涡旋振荡混匀,在4℃14000rpm条件下离心5min,小心吸取上清并与前一操作得到的上清合并。TENP缓冲液由终浓度为50mM的Tris pH 8.0、终浓度为20mM的EDTA pH 8.0、终浓度为100mM的NaC1和最终质量体积百分数为1%的PVPP组成。重复用TENP缓冲液洗涤离心后的沉淀两次,并将每次离心后合并上清液,得到DNA粗产物。

[0049] (4) 进一步纯化DNA粗产物:步骤(3) 得到DNA粗产物平均分配至2个2mL离心管中,每个离心管均进行如下操作:

[0050] 离心管中加入1mL异丙醇并颠倒混匀,25℃静置15分钟后,在4℃14000rpm条件下离心10min,弃上清液,将含有沉淀的离心管倒置于纸巾上干燥。然后加入500μL第一洗涤液充分溶解沉淀,置冰上孵育90分钟。其中,第一洗涤液为终浓度为0.1M pH8.0的磷酸盐缓冲

液和终浓度为1M的乙酸钾组成。置冰上孵育90分钟后4℃14000rpm条件下离心30min;取上清并加入2μL RNase (10mg/mL),涡旋振荡,37℃孵育30min。在37℃孵育30min后的溶液中加入50μL第二洗涤液和1mL新鲜无水乙醇(储存于-20℃),颠倒混匀,置于-20℃过夜,其中,第二洗涤液为3M乙酸钠,pH为5.2。然后在4℃,14000rpm条件下离心30min,并弃去乙醇。接着加入1mL 70%乙醇,弹击离心管数次使得DNA悬浮于70%乙醇中,然后14000rpm条件下离心5min,并弃去70%乙醇。然后再加入500μL 70%乙醇,弹击离心管数次使得DNA再次悬浮于70%乙醇中,14000rpm条件下离心5min,并弃去70%乙醇,得到纯化后的DNA。在纯化后的DNA中加入100μL缓冲液TE,保存备用,其中缓冲液TE由终浓度为10mM pH8.0的Tris-HC1和终浓度为1mM pH8.0的EDTA组成。

[0051] (5) 用Nano drop检测实施例1制备的三组DNA的纯度,用Qubit3.0检测实施例1制备的三组DNA的浓度,并分别电泳检测DNA的完整性。实施例1的三组粪便样品中的DNA的纯度和浓度分别如表1所示、电泳图如图1所示。表1中,编号为2~4为实施例1的三个粪便样品的提取结果。图1中编号1对应于E.coli DNA标准品,编号为2~4对应于实施例1的三个粪便样品的电泳结果;M对应于15K DNA ladder。

#### [0052] 实施例2

[0053] 实施例2提取粪便中的DNA的步骤和方法与实施例1大致相同,其不同在于,实施例2使用的裂解液由终浓度为1M的异硫氰酸胍、终浓度为0.05M的Tris-HC1、最终质量体积百分数为5%的N-月桂酰肌氨酸和终浓度为0.05M pH8.0的磷酸盐缓冲液组成。TENP缓冲液由终浓度为100mM Tris pH8.0、终浓度为50mM的EDTA pH8.0、终浓度为500mM的NaC1和最终质量体积百分数为6%PVPP组成。第一洗涤液由终浓度为0.05M pH8.0的磷酸盐和终浓度为1.5M乙酸钾组成。

[0054] 实施例2的三组粪便样品中DNA的浓度分别如表1所示、电泳图如图1所示。表1中,编号为5~7为实施例2的三个粪便样品的提取结果。图1中编号1对应于E.coli DNA标准品,编号为5~7对应于实施例2的三个粪便样品的电泳结果。由图1可知,实施例1和实施例2的得到的DNA没有出现降解。

#### [0055] 表1

[0056]

编号	浓度(ng/μL)	总量 μg	OD260/OD280
2	200.285	10	1.82

	3	234.638	11.73	1.85
	4	293.507	14.68	1.85
[0057]	5	223.407	11.17	1.81
	6	234.562	11.73	1.83
	7	252.412	12.62	1.83
	l .	ı	ı	

实施例3

[0058]

[0059] 实施例3按照传统SDS手工法提取粪便中的DNA,具体为:

[0060] 取200mg人的粪便样品于2mL离心管中,加入500uL最终质量体积比为2%SDS裂解 液,振荡混匀。其中2%SDS裂解液由终浓度为500mM NaC1,50mM Tris-HC1(pH 8),50mM EDTA和最终质量体积百分数为2%的SDS组成。再加入500µL TE饱和酚上下颠倒混匀,加入 0.3g研磨珠,置于研磨仪研磨30s。将研磨后的样本于4℃,15000rpm离心5min,吸取离心后 的上清液到2mL新的离心管中,并加入400µL最终体积比为25:24:1的酚、氯仿、异戊醇,将离 心管于研磨仪研磨45s。将研磨后的样本于4℃,15000rpm离心5min,吸取上清液于新的离心 管中,加入等体积的异丙醇和1/10体积的3M醋酸钠后将离心管上下颠倒混匀,4  $\mathbb{C}$  , 15000rpm离心5min,弃去上清。将DNA沉淀于超净台干燥10min,加入50μL TE缓冲液溶解 DNA,4℃保存过夜,取出后加入2µL RNase(10mg/mL),37℃加热30min后于-20℃长期保存。

实施例3的结果如表2及图2所示。表1中的编号1~3对应于实施例3的三个粪便样 品。图2+M为15K DNA ladder,编号 $1\sim3$ 对应于表2+的编号 $1\sim3$ 的电泳结果。由图2可知, 实施例3得到的DNA发生了部分降解。

[0062] 表2

#### [0063]

编号	浓度 (ng/µL)	总量µg	OD260/OD280
1	146	7.3	1.90
2	77.8	3.89	1.91
3	125	6.25	1.90

[0064] 实施例4

[0065] 实施例4分别用QIAamp Fast DNA Stool Mini试剂盒和天根粪便试剂盒提取粪便 中的DNA,具体操作按照试剂盒的说明书进行。

实施4的结果如表3及图3所示。表3中编号1~3为QIAamp Fast DNA Stool Mini试 剂盒的提取结果,编号4~5为天根粪便试剂盒的提取结果。图3中编号1~3对应于QIAamp Fast DNA Stool Mini试剂盒的电泳结果;编号4~5对应于天根粪便试剂盒电泳结果;编号 6对应于E.coli DNA标准品;M对应于15K DNA ladder。由图3可知,实施例4的两种试剂盒提 取的DNA的发生了严重的降解。

[0067] 表3

## [0068]

编号	浓度 (ng/µL)	总量µg	OD260/OD280
1	31.6	1.52	1.76
2	35.6	1.78	1.74
3	37.6	1.88	1.78
4	30.2	1.51	1.68
5	28.2	1.41	1.73

[0069] 实施例5

[0070] 实施例5提取粪便中的DNA的步骤和方法与实施例1大致相同,其不同在于,省略了实施例1中的步骤(3)。

[0071] 实施例5的结果如表4及图4所示,表4中编号1对应实施例5的提取结果,可以看出提取得到的DNA纯度较低。当0D260/0D280 $\approx$ 1.8认为DNA较纯,未用TENP缓冲液回收裂解后的DNA得到的DNA总量低于实施例1。图4中,M对应于15K DNA ladder,编号1对应于实施例5的电泳结果。由图4可知,实施例5的DNA还发生了部分降解。

# [0072] 表4

# [0073]

编号	浓度 (ng/µL)	总量µg	OD260/OD280
1	57.6	3.46	1.69

[0074] 以上所述实施例的各技术特征可以进行任意的组合,为使描述简洁,未对上述实施例中的各个技术特征所有可能的组合都进行描述,然而,只要这些技术特征的组合不存在矛盾,都应当认为是本说明书记载的范围。

[0075] 以上所述实施例仅表达了本发明的几种实施方式,其描述较为具体和详细,但并不能因此而理解为对发明专利范围的限制。应当指出的是,对于本领域的普通技术人员来说,在不脱离本发明构思的前提下,还可以做出若干变形和改进,这些都属于本发明的保护范围。因此,本发明专利的保护范围应以所附权利要求为准。

1 2 3 4 5 6 7 M

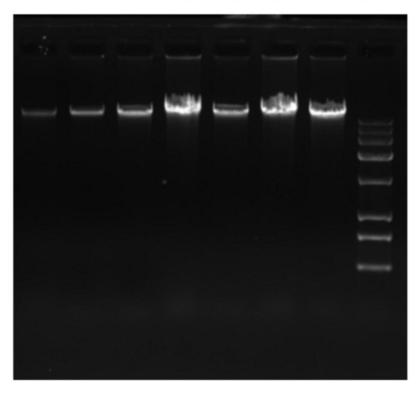


图1

 $M \quad 1 \quad 2 \quad 3$ 

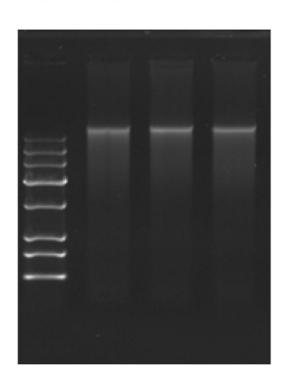


图2

5 6 1 2 3 4

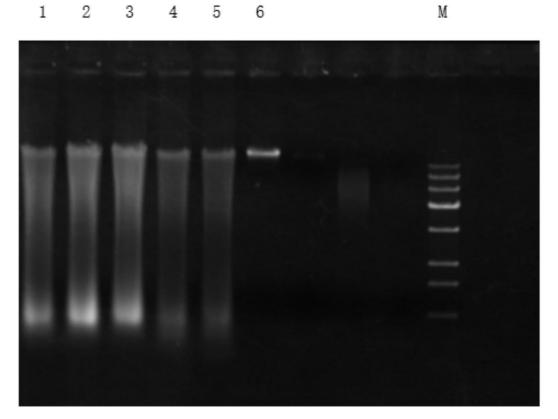


图3

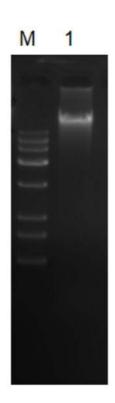


图4