

版本号:220301

New Type Plant DNA Kit

新型植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

目录号: DN15

❖ 适用范围:

适用于快速提取植物组织细胞和真菌基因组DNA等。

❖ 试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次	100 次	200 次
RNaseA(10mg/ml)	-20℃	250 µl	500 µl	1 ml
缓冲液 AP1	室温	20 ml	40 ml	80 ml
缓冲液 AP2	室温	7 ml	13 ml	26 ml
缓冲液 AP3/E	室温	15 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	25 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	50 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
漂洗液 WB	室温	13 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	25ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇	50 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml	20 ml
吸附柱 AC	室温	50 个	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个	200 个

本试剂盒全部组分常温运输，各组分按照指定温度储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 缓冲液 AP1、AP3/E 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 65℃ 水浴几分钟帮助重新溶解（AP3 加入乙醇前可加热，加入乙醇后不可加热），恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ 产品介绍:

该试剂盒采用 DNA 吸附柱和新型独特的溶液系统, 适合于从含酚类、多糖类和酶抑制物的植物样品中快速简单地提取基因组 DNA。可在 30 分钟内完成一个或多个 100mg 新鲜或 20mg 干燥的植物样品 DNA 的纯化工作。提取过程不需要用到有毒的酚氯仿等有机物抽提, 也不需要用到耗时的异丙醇或乙醇沉淀, 并能快速高效地去除多糖类、酚类和酶抑制物等杂质, 纯化的 DNA 可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。

新鲜或干燥的植物组织(细胞)磨碎后经裂解液裂解; 蛋白质、多糖、细胞残片被沉淀去除; 然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, 再通过一系列快速的漂洗—离心的步骤, 进一步将多糖, 多酚和细胞代谢物, 蛋白等杂质去除, 最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

❖ 产品特点:

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜, 柱与柱之间吸附量差异极小, 可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 不需要使用有毒的苯酚等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
3. 快速, 简捷, 单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
4. 数种去多糖、多酚成份和多次柱漂洗确保高纯度, OD260/OD280 典型的比值达 1.7~1.9, 可直接用于 PCR, Southern-blot 和各种酶切反应。

❖ 注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到 65℃ 备用。
3. 缓冲液 AP3/E 中含有刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 不同来源的植物组织材料中提取 DNA 的量会有差异, 一般 100mg 新鲜组织典型产量可达 3-25μg。

5. **洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA**，不影响下游酶切、连接等反应。**也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5**，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20°C 。DNA 如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl, 1mMEDTA, pH 8.0），但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

提示：

- ⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- ⇒ 第一次使用前请先在缓冲液 AP3/E 中加入指定量无水乙醇！

1. 取适量植物组织（新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg，可适当多取一些样品弥补粘在研钵上的损失）在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。

研磨前，可准备一个 1.5ml 离心管，加入 400 μl 缓冲液 AP1 和 4 μl RNase A(10 mg/ml)室温备用。

2. 转移细粉（新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg）到前面准备的 1.5ml 离心管（已加入 400 μl 缓冲液 AP1 和 4 μl RNaseA(10 mg/ml)旋涡振荡，充分混匀帮助裂解。
3. 65°C 水浴 10 分钟，在水浴过程中可颠倒离心管 2-3 次，混合样品。

注意：此步骤也可室温操作，室温放置 10 分钟，但是 DNA 得率会降低一些。

4. 加入 130 μl 缓冲液 AP2，涡旋振荡混匀 1 分钟，冰上放置 5 分钟，13,000 rpm 离心 5-10 分钟，小心吸取上清到一个新的 1.5ml 离心管，注意不要吸到界面物质。

此步骤可以沉淀去除蛋白、多糖、等各种杂质。

5. 计算上清量，加入 1.5 倍体积的 AP3/E（**请先检查是否已加入无水乙醇！**），立即振荡混匀。

加入 AP3/E 可能会出现絮状沉淀，但不影响 DNA 提取。注意将 AP3/E 直接加入到上清并立即吹打或者振荡混匀。

6. 将上一步所得混合物（包括可能出现的沉淀）加入一个吸附柱 AC 中，（吸附柱放

入收集管中) 13,000 rpm 离心 30-60 秒, 倒掉收集管中的废液(先加 650μl 离心, 弃废液, 再加入剩余的溶液, 再次离心)。

7. 加入 600μl 漂洗液 WB (**请先检查是否已加入无水乙醇!**), 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
8. 重复一遍操作步骤 7。

注意: 如果吸附柱膜还呈现较多绿色色素, 可添加此步漂洗, 向吸附柱 AC 中加入 500 μl 无水乙醇, 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。

9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 13,000 rpm 离心 2 分钟, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 取出吸附柱 AC, 放入一个干净的离心管中, 在**吸附膜的中间部位**加 50μl-100μl 洗脱缓冲液 EB, 室温放置 3-5 分钟, 13,000 rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入吸附柱中, 室温放置 2 分钟, 13,000 rpm 离心 1 分钟。
洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果预计和需要产量高, 可增大洗脱体积, 如果需要 DNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 50μl, 体积过小降低 DNA 洗脱效率, 减少 DNA 产量。
11. DNA 可以存放在 2-8℃, 如果要长时间存放, 可以放置在一 20℃。