

版本号: 260501

Plant /Fungi Genomic DNA Micro Kit
超微量植物/真菌基因组 DNA 快速提取试剂盒

目录号: DN58

❖ 适用范围:

适用于快速提取超微量植物组织细胞/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 (DN5801)	100 次 (DN5802)	200 次 (DN5803)
RNase A (10mg/ml)	4°C	150 µl	250 µl	250 µl
缓冲液 AP1	室温	10 ml	20 ml	40 ml
缓冲液 AP2	室温	4 ml	7 ml	13 ml
缓冲液 AP3/E	室温	8 ml 第一次使用前按瓶子标签说明加无水乙醇	15 ml	25 ml
漂洗液 WB	室温	13 ml 第一次使用前按瓶子标签说明加无水乙醇	25 ml	50 ml
洗脱缓冲液 EB	室温	10 ml	10 ml	20 ml
超微量 DNA 吸附柱和收集管	室温	50 套	100 套	200 套
微量研磨杵	室温	3 根	6 根	6 根

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. RNase A 保存在即用型甘油缓冲液中, 常温运输, 收到后, 不超过 25°C 室温至少保存 6 个月, 4°C 保存 12 个月, 长期保存放-20°C。
2. 缓冲液 AP1、AP3/E 低温时可能出现析出和沉淀, 可以在 65°C 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。

❖ 产品介绍:

该试剂盒采用超微量 DNA 吸附柱和新型独特的溶液系统, 适合于从普通植物样品/部分含酚类、多糖类和酶抑制物的植物样品/普通真菌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 1-25 mg 新鲜或 0.5-5 mg 干燥的微量植物/真菌样品 DNA 的提取纯化工作。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)/真菌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. 特殊无垫圈离心柱设计确保离心后无液体残留和污染。保证了提取 DNA 高纯度。
2. 特殊超微量离心柱设计将吸附膜面积缩小了几倍, 最大限度的减少了 DNA 黏附在吸附膜上的损失, 同时可以最低 6 μ l 超小体积洗脱, 保证了提取 DNA 的高浓度。
3. 超微量离心柱和其它厂家的不同, 它采用了艾德莱独特的疏水不吸附核酸的垫片底托+硅胶膜设计, 增加的底托可以承受高达 2 万转的高速离心, 不会导致硅胶膜高速离心中脱落掉下去。而高速离心可以确保把杂质, 盐离子, 乙醇都甩干净, 最大限度的提高了纯度。
4. 完全不使用有毒的苯酚, 氯仿等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。

❖ 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°C 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 的量差异很大，一般25 mg 新鲜组织典型产量可达0.5–5 μ g。
5. 植物/真菌种类复杂，没有一种试剂盒可以提取所有种类的植物/真菌 DNA。如果有的植物/真菌多糖多酚含量过于丰富、次级代谢产物太复杂导致本试剂盒效果不佳，可以选择**本公司的 DN55 复杂多糖多酚植物/真菌基因组 DNA 快速提取试剂盒**提取植物/真菌 DNA（需要另外购买超微量离心柱换掉原来的普通离心柱），一般该试剂盒对于多糖多酚次级代谢产物复杂的植物/真菌 DNA 提取效果良好。

❖ 操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）

- ⇒ 第一次使用前按照漂洗液WB和缓冲液AP3/E瓶标签指示加入无水乙醇，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！
1. 取适量植物组织（新鲜组织 1–25 mg 或干重组织 0.5–5 mg）在 1.5 ml 离心管中，加入液氮用微量研磨杵充分碾磨成细粉。
▲ 如果遇见难裂解的植物组织/真菌，可以用高速珠磨均质仪器和适合裂解珠（玻璃珠，钢珠，锆珠等）击打粉碎样品（可加入液氮冻脆后击打更容易破碎）。
▲ 微量研磨杵可以洗干净后擦干反复使用。
 2. 加入 200 μ l 缓冲液 AP1 和 2 μ l RNase A(10 mg/ml)旋涡振荡，充分混匀帮助裂解。
 3. 65°C 水浴 10 min，在水浴过程中可颠倒离心管 2–3 次，混合样品。
▲ 注意：此步骤也可室温放置 10 min，但是 65°C 水浴 10 min 产量更高。
 4. 加入 65 μ l 缓冲液 AP2，涡旋振荡混匀 1 min，冰上放置 5 min，13,000 rpm 离心 5–10 min，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）加入一个超微量离心柱中，（离心柱放入收集管中）13,000 rpm 离心 30–60 sec，倒掉收集管中的废液。

7. 加入 600 μ l 漂洗液 WB(请先检查是否已加入无水乙醇!), 13, 000 rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。
8. 重复一遍操作步骤 7。
 - ▲ 注意: 如果离心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 μ l 无水乙醇, 13, 000 rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。
9. 将离心柱放回空收集管中, 13, 000 rpm 离心 2 min, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 取出离心柱, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中央**直接滴加** 10 μ l-15 μ l 洗脱缓冲液 EB, 室温放置 2-4 min, 13, 000 rpm 离心 1 min。将得到的溶液重新加入吸附柱中, 室温放置 2 min, 13, 000 rpm 离心 1 分钟。
 - ▲减少洗脱液体积可以提高 DNA 浓度, 但是最低洗脱液体积不应少于 6 μ l。
11. DNA 可以短时存放在 2-8°C, 如果要长时间存放, 可以放置在-20°C。