

版本号: 220501

**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 (DN1501)	100 次 (DN1502)	200 次 (DN1503)
RNase A (10mg/ml)	4°C	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	25 ml	50 ml
漂洗液 WB	室温	13 ml	25 ml	50 ml
洗脱缓冲液 EB	室温	10 ml	10 ml	20 ml
吸附柱 AC	室温	50 个	100 个	200 个
收集管 (2 ml)	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°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。
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, 适合于从普通植物样品到部分含酚类、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 100 mg 新鲜或 20 mg 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 30 分钟内完成。
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°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 的量会有差异，一般100 mg 新鲜组织典型产量可达3 - 25 $\mu$ g。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

⇒ 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 1.5 ml 离心管，加入 400  $\mu$ l 缓冲液 AP1 和 4  $\mu$ l 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 1.5 ml 离心管（已加入 400  $\mu$ l 缓冲液 AP1 和 4  $\mu$ l RNase A (10 mg/ml) 旋涡振荡，充分混匀帮助裂解。

3. 65 $^{\circ}$ 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 $^{\circ}$ C 水浴 10 min 产量更高。**

4. 加入 130  $\mu$ 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 1.5 ml 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 sec，倒掉收集管中的废液

(先加 650  $\mu$ l 离心, 弃废液, 再加入剩余的溶液, 再次离心)。

7. 加入 600  $\mu$ l 漂洗液 WB(请先检查是否已加入无水乙醇!), 13,000 rpm 离心 15 sec, 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, 可添加一步漂洗, 向吸附柱 AC 中加入 500  $\mu$ l 无水乙醇, 13, 000 rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。**

9. 将吸附柱 AC 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 50 - 100  $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB, 室温放置 3 - 5 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 min。  
**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 30  $\mu$ l, 体积过小降低 DNA 洗脱效率, 减少 DNA 产量。**
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。