

多糖多酚植物基因组 DNA 提取试剂盒

Plant Genomic DNA Kit

(离心柱型)

目录号: SD11

产品内容

试剂盒组成	保存	SD11-1 10 次	SD11-2 50 次	SD11-3 100 次
Buffer AP1 (裂解液)	室温	5 ml	25 ml	50 ml
Buffer AP2 (杂质去除液)	室温	2 ml	10 ml	20ml
Buffer AP3 (结合液)	室温	3 ml	15 ml	25 ml
第一次使用前请加入指定体积的无水乙醇				
Buffer WB	室温	3 ml	15 ml	25 ml
第一次使用前请加入 4 倍体积的无水乙醇				
Buffer TE	室温	3 ml	15 ml	20 ml
DNA Columns & Collection Tubes	室温	10T	50T	50T×2
RNA 酶 (终浓度 10 mg/ml)	-20℃	50 ul	250 ul	500 ul

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25 °C) 干燥条件下可保存 12 个月; 更长时间的保存可置于 2-8 °C。在 2-8 °C 保存条件下, 若产生沉淀, 使用前应先将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37 °C 水浴中预热 10 min, 以溶解沉淀。避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品简介

本试剂盒采用 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.不需使用有毒的苯酚,无需乙醇沉淀
- 2.操作便捷,纯度高
- 3.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(请在使用本试剂盒前务必仔细阅读此项)

- 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.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。
- 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 3-25 μ g。

操作步骤

使用前请先在 Buffer WB 及缓冲液 AP3 中加入指定量无水乙醇,充分混匀并做上标记

- 1.取适量植物组织(新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg)在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
- 2.转移细粉到一个 1.5ml 离心管,不要解冻,加入 400 μ l 缓冲液 AP1 和 4 μ l RNase A(10 mg/ml),漩涡振荡,充分混匀帮助裂解。

注意:如果组织裂解困难,可根据需要加一个轻柔匀浆 10 秒的步骤帮助裂解。大多数情况下不需要离心去除未完全裂解的组织,因为后面有一个离心去除的步骤。

- 3.65 °C 水浴 20 分钟,在水浴过程中颠倒离心管 2-3 次,混合样品。
- 4.加入 130 μ l 缓冲液 AP2,充分混匀,冰上放置 5 分钟, 12,000 rpm 离心 5-10 分钟,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。
- 5.计算上清量,加入 1.5 倍体积的 AP3 (请先检查是否已加入无水乙醇!),立即吹打混匀。

注意：加入 AP3 可能会出现絮状沉淀，但不影响 DNA 提取。注意将 AP3 直接加入到上清并立即吹打混匀。

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 650 μ l 离心，弃废液，再加入剩余的溶液，再次离心）。

7. 加入 700 μ l Buffer WB（**请先检查是否已加入无水乙醇!**），12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

8. 加入 500 μ l Buffer WB，12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

9. 将吸附柱放回空收集管中，12,000 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，放入一个干净的离心管中，在**吸附膜的中间部位**加 100 μ l Buffer TE（洗脱液可事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热），室温放置 3-5 分钟，12,000 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，12,000 rpm 离心 1 分钟。

注意：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 50 μ l，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 $^{\circ}$ C,如果要长时间存放，可以放置在 -20 $^{\circ}$ C。

问题与解决方法

问题	评论与建议
DNA 产量低	*处理材料过量或者裂解不完全-建议：使用适量的起始材料，充分研磨或者匀浆 *结合条件不恰当-建议：步骤 5 精确估计上清量，加入 1.5 倍体积 AP3 量要准确
RNA 残留	*植物 RNA 含量太丰富-建议：提高 RNase A 处理浓度
未提取到 DNA	*漂洗液 WB 中忘记加无水乙醇-建议：第一次实验时，在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇。
离心柱堵塞	*研磨裂解不充分，团块多；裂解物太粘稠；离心力太小-建议：参见步骤 2，加一个离心步骤去除；减低起始材料量，不要处理过量，加大离心力
洗脱下来的 DNA 溶液带颜色或者膜上有明显的色素残留	*漂洗次数不够-建议：步骤 8 完成后，加 500 μ l 乙醇再漂洗一遍 *起始材料太多过量-建议：减少起始处理材料，不要过量

问题	评论与建议
A ₂₆₀ 吸光值异常偏高	*一些硅基质膜成分一起洗脱下来，干扰了吸光值- 建议 ：将洗脱的基因组 DNA 溶液 13,000rpm 再离心一分钟，小心取上清使用。
DNA 下游酶切不能切开或者酶切不完全	*一些硅基质膜成分一起洗脱下来，抑制了酶切反应- 建议 ：将洗脱的基因组 DNA 溶液 13,000rpm 再离心一分钟，小心取上清使用。 *离心柱残留有较多乙醇或者底部不慎沾有乙醇抑制了酶切反应- 建议 ：确保做了步骤 9，然后空气中晾几分钟，让残留乙醇挥发。
