

植物基因组DNA快速提取试剂盒

货号：DD108-01

规格：50次

保存：15-25 °C

【产品概述】

本产品通过添加多种针对植物特点的多糖、多酚去除成份，实现了迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，氯仿抽提后通过离心清除多糖、多酚和蛋白质，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上，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，在低盐洗脱缓冲液作用下得到纯净的基因组DNA。

【产品组分】

货号	组分	体积
DD108-101	裂解液PL	30 ml
DD108-102	结合液PQ（首次使用前按说明加指定量无水乙醇）	18 ml
DD108-103	抑制物去除液IR	25 ml
DD108-104	漂洗液WB（首次使用前按说明加指定量无水乙醇）	13ml
DD108-105	洗脱缓冲液EB	15 ml
DD108-106	吸附柱&收集管	50套

【保存条件】

室温（15-25°C）保存，保质期一年。

注：裂解液PL、抑制物去除液IR低温时可能出现析出或沉淀，在55°C水浴几分钟重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。结合液PQ盐酸胍浓度高，加入乙醇后可能出现一些沉淀不影响使用，直接取上清使用。

【产品特点】

1. 本产品不需要使用苯酚，不需要乙醇沉淀。
2. 快速，简捷，单个样品操作1小时内完成。
3. 通过多糖多酚去除和多次柱漂洗步骤确保产物高纯度， OD_{260}/OD_{280} 比值达1.7~1.9，长度可达20kb -50kb，可直接用于PCR，Southern-blot和各种酶切反应。

【实验准备】

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000rpm的台式离心机。
2. 需要自备氯仿或者氯仿/异戊醇（体积比24：1混合）、无水乙醇和β-巯基乙醇。
3. 实验前将水浴先预热到65°C备用。
4. 结合液PQ和抑制物去除液IR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。
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，但应该确保批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，1mM EDTA，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。
6. 不同来源的植物组织材料中提取DNA的量会有差异，一般100mg新鲜组织产量可达3-25 μg。
7. 本试剂盒是按照标准提取过程配置各溶液体积，如果样品DNA含量低或者产量低，需要扩大提取量，需要另外购买溶液。

【常规操作步骤】

提示：（1）首次使用前请在漂洗液WB和结合液PQ中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时标注，以免重复。

（2）取适量裂解液PL放置在65℃预热，使用前加入β-巯基乙醇到终浓度2%。

1. 取适量植物组织（新鲜组织100 mg 或干重组织30 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600 μl 65℃预热的裂解液PL（确认已加入β-巯基乙醇至浓度2%），剧烈涡旋振荡混匀，用大口径枪头轻柔吹打帮助裂解。（如果组织裂解困难，可以轻柔匀浆10秒的帮助裂解。）
3. 65℃水浴20-30分钟，在水浴过程中颠倒离心管数次混合样品。

注：如果样品RNA丰富易残留，可在水浴前加入5-6 μl RNA酶（20mg/ml）。如果组织干燥或者产量低，可以适当延长水浴时间。

注：如果提取的DNA残留RNA较多导致电泳时候条带拖尾，条带扭曲，背景很高等不正常电泳情况，可以加1% RNA酶（10mg/ml）37℃或者室温放置半小时即可消化RNA，消化完全后可直接用于PCR或者酶切。

4. 加入700 μl 氯仿或者氯仿/异戊醇（体积比24：1混合），颠倒充分混匀几分钟（或者涡旋混匀），13,000rpm 离心5分钟。
可选步骤：若提取的植物组织富含多糖多酚，可以在第4步前用等体积酚/氯仿（1：1）抽提一遍。
5. 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。
可选步骤：如上清比较浑浊，则可重复步骤4一遍，直到得到透亮上清。
6. 估算上清量，加入1.5倍体积结合液PQ（请确保已加入无水乙醇）后立刻涡旋混匀。
7. 将混匀的液体转入吸附柱AC中，13,000rpm离心30秒，倒掉收集管中的废液。（吸附柱容积约700 μl，可分次加入离心）。
8. 加入500 μl 抑制物去除液IR，13,000rpm 离心30秒，弃废液。
9. 加入600 μl 漂洗液WB（请确保已加入无水乙醇），13,000rpm 离心30秒，弃掉废液。
10. 再次加入600 μl 漂洗液WB，13,000rpm 离心30秒，弃掉废液。
11. 将吸附柱AC放回空收集管中，13,000rpm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。

12. 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 μl 洗脱缓冲液EB，室温放置3-5分钟，13,000rpm 离心1分钟。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2分钟，13,000rpm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50 μl，体积小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。

如追求最大产量，洗脱缓冲液事先在 80-100℃水浴中预热后再加可以提高产量。

【低DNA含量或者产量低样品操作步骤】

1. 取适量植物组织（新鲜组织400 mg 或干重组织200 mg）在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
2. 转移细粉到一个15ml离心管，不要解冻，加入9ml 65℃预热的裂解液PL（确认已加入β-巯基乙醇至浓度2%），剧烈涡旋振荡混匀，用大口径枪头轻柔吹打帮助裂解。（如果组织裂解困难，可以轻柔匀浆10秒的帮助裂解。）
3. 室温放置60分钟，此间颠倒离心管数次混合样品。（如果组织干燥或者产量低，可以放置在65℃水浴。）
4. 加4.5ml 氯仿，涡旋充分混匀，3,000g 离心10分钟。
5. 小心吸取上清到一个新的15ml离心管，注意不要吸到界面物质。重复一遍步骤4。
6. 小心吸取上清到一个新的15ml离心管，估算上清量，加入0.7倍体积的异丙醇，涡旋混匀来沉淀DNA。
7. 立刻3,000g 离心20分钟沉淀DNA，弃上清，颠倒离心管口放在纸巾上控干残留液体，并小心用移液枪吸干沉淀周围残留液体（不要过于干燥DNA沉淀）。

8. 加入300 μ l—400 μ l 预热到65 $^{\circ}$ C的灭菌水，重新溶解DNA，在65 $^{\circ}$ C短暂温育帮助溶解，期间不断轻弹管底帮助溶解。
9. 加入1.5倍体积结合液PQ（450 μ l—600 μ l，请确保已加入无水乙醇）后立刻涡旋，充分混匀。
10. 后续步骤和上面标准操作步骤7开始后完全一样。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，承诺为您更换等量合格产品，本公司对此产品所承担的责任仅限于产品价值本身。