

植物基因组DNA快速提取试剂盒II型

货号：DD109-01

规格：50次

保存：15-25 °C

【产品概述】

本产品采用了特有的溶液，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分钟内完成一多个植物样品DNA的纯化工作。提取过程无需酚氯仿等有机物抽提，无需异丙醇或乙醇沉淀，能够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。

【产品组分】

货号	组分	体积
DD109-101	RNase A(10mg/ml)	250 µl
DD109-102	缓冲液AP1	25 ml
DD109-103	缓冲液AP2	10 ml
DD109-104	缓冲液AP3/E（首次使用前按说明加指定量无水乙醇）	15 ml
DD109-105	漂洗液WB（首次使用前按说明加指定量无水乙醇）	15 ml
DD109-106	洗脱缓冲液EB	15 ml
DD109-107	吸附柱AC&收集管（2ml）	50套

【保存条件】

不同组分按照说明保存，保质期一年。

注：缓冲液AP1、AP3/E低温时可能出现析出和沉淀，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确保产物高纯度， OD_{260}/OD_{280} 比值达1.7~1.9，可直接用于PCR、Southern-blot和各种酶切反应。

【实验前准备】

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. 实验前将水浴先预热到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. 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，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。
5. 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。

【常规操作步骤】

提示：首次使用前请在漂洗液WB和AP3/E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。

1. 研磨前，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。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. 将研磨好的细粉转移到前面准备的1.5ml离心管中（注：已加入缓冲液AP1 和 RNase A (10 mg/ml)旋涡振荡，充分混匀帮助裂解。（如果组织裂解困难，可以轻柔匀浆10秒的帮助裂解。）
3. 65°C水浴20-30分钟，在水浴过程中颠倒离心管3-5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， 14,000 rpm 离心5-10 分钟，小心吸取上清到一个新的1.5ml离心管。
5. 估算上清量，加入1.5倍体积的AP3/E（请确保已加入无水乙醇），立即吹打混匀。此时可能出现沉淀，但不影响实验结果。
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650 μ l离心，弃废液，再加入剩余的溶液，再次离心）。
7. 加入600 μ l漂洗液WB（请确保已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心30秒，弃掉废液。
8. 加入600 μ l漂洗液WB，12,000rpm 离心30秒，弃掉废液。
9. 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。
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100 μ l 洗脱缓冲液EB（洗脱缓冲液事先在 65-70°C水浴中预热），室温放置3-5分钟，12,000rpm 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，12,000rpm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 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°C，-20°C可以长期保存。

【常见问题分析及其解决方案】

问题	可能原因与建议
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/E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，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。
洗脱下来的DNA产量低	*离心柱残留有较多乙醇或者底部不慎沾有乙醇-建议：确保做了步骤9，否则残留乙醇会影响洗脱效率。 *使用了水或者其他非最佳液体代替洗脱缓冲液-建议：仔细阅读步骤10和注意事项5和只使用洗脱缓冲液EB洗脱。 *洗脱缓冲液量偏低-建议：使用200 μ l洗脱缓冲液洗脱。
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。

【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。