



广谱植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

产品信息:

试剂盒组成	保存	CZ301-01 100 次
RNase A(10mg/ml)	室温	300 μ l \times 2
缓冲液 AP1	室温	50ml
缓冲液 AP2	室温	20ml
缓冲液 AP3/E	室温	25ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	10ml \times 2
Magbead 磁珠	室温	5ml

保存条件: 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍:

该试剂盒采用磁珠法和新型独特的溶液系统, 适合于从植物样品中快速简单地提取基因组 DNA。可快速完成一个或多个 100mg 新鲜或 20mg 干燥的植物样品 DNA 的纯化工作。磁珠在高盐、低 pH 值状态下选择性地结合 DNA, 再通过漂洗液将杂质和其它成分去除, 最后用低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将 DNA 从磁珠上洗脱, 纯化后的 DNA 可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。

产品特点:

1. 简单快速、无毒无害。
2. 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. 裂解液 AP1、AP3/E 低温时可能出现析出和沉淀, 可以在 37 $^{\circ}$ 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。
3. 开始实验前将需要的水浴先预热到 65 $^{\circ}$ C 备用。
4. 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。**
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 新鲜组织典型产量可达 3-25 μ g。
6. **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 $^{\circ}$ 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。

自备试剂: 无水乙醇

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

提示:

⇒ 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 100mg 或干重组织 20mg) 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), 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 min, 12,000rpm 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。

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!**)，立即吹打混匀。
6. 向混合物 (包括可能出现的沉淀) 中加入 50ul 的 Magbead 磁珠。
7. 将离心管放在合适型号的震荡器上，震荡结合 5 min(或者将离心管颠倒混匀 10 sec)。
注意: 设定的震荡速度一定要将磁珠完全震荡起来，让磁珠充分捕获质粒 DNA。
8. 将离心管放于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附于离心管的侧壁上后，带着磁力架倒转离心管快速倒掉上清 (保持离心管固定在磁力架上)，或用移液器吸出上清。
9. 加入 500μl 漂洗液 WB (**加入无水乙醇!**)，涡旋震荡 10 sec，使磁珠充分悬浮于漂洗液 WB 中(或者将离心管颠倒混匀 10 sec)。
10. 振荡结束后，用手甩，将粘在盖上的磁珠和液滴甩下。
11. 将离心管放于磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附于离心管侧壁上后，带着磁力架倒转离心管快速倒掉上清 (保持离心管固定在磁力架上)，或用移液器吸出上清。
12. 重复操作步骤 9-11。
13. 保持离心管固定于磁力架上，待磁珠完全吸附于离心管侧壁上后，用移液器小心吸掉管底和管盖上的残余液体 (一旦吸到磁珠，可以打掉液体再让磁铁吸附一下磁珠)。敞开管口室温放置 15 min 以挥发乙醇。也可用电风扇对着离心管口吹风以加速乙醇挥发，以肉眼观察不到离心管底部有液滴残留时为止。乙醇挥发过程中需避免磁珠的过度干燥。
14. 从磁力架上小心取下离心管置于普通离心管架上，向每个离心管中加入 50-100μl 的洗脱缓冲液 EB 或去离子水，涡旋震荡保证磁珠完全悬浮于洗脱缓冲液 EB 或去离子水中，室温静止放置 1 min 。
15. 将离心管放置在磁力架上静置 2 min，待磁珠完全吸附于离心管侧壁上后，用吸头将 40-90ul 液体到一个新的 1.5ml 的离心管中。
注意: 1.不要吸到磁珠; 2.装质粒 DNA 的离心管与带磁珠的离心管一一对应。