

A&DSim 植物 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

A&DSim 植物 DNA 提取试剂盒 Cat. No.	5 次样品 A-3201005	50 次制备 A-3201050	250 次制备 A-3201250
核酸纯化柱	5 个	50 个	250 个
2 ml 离心管	5 个	50 个	250 个
Buffer PL	3 ml	30 ml	150 ml
Buffer K	2 ml	20 ml	100 ml
Buffer WA（浓缩液）	1.9 ml	12 ml	56 ml
Buffer WB（浓缩液）	1.5 ml	9.5 ml	50 ml
Buffer TE	1.2 ml	12 ml	60 ml
说明书	1 份	1 份	1 份

产品储存

试剂盒如果储存于室温（15~25℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

技术支持

艾德科技（北京）有限公司研发部：e-mail: tech@aderr.com 电话：010-57225208。

产品介绍

本产品适合从 50~100 mg 新鲜植物组织（或者 10~20 mg 干燥的植物组织）中分离纯化总 DNA。植物组织经液氮冷冻后研磨破碎细胞，加入裂解液释放基因组 DNA，再经 Buffer K 沉淀植物组织的蛋白及多糖等杂质。将含有 DNA 的上清液加入核酸纯化柱后，DNA 结合在核酸纯化柱上，残留的蛋白与 PCR 抑制物则被过滤除去，DNA 经 Buffer WA 和 Buffer WB 洗涤后，用 Buffer TE 洗脱，即可用于各种分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 液氮与研钵
3. 1.5ml 离心管与移液器吸头
4. 乳胶手套、一次性口罩等防护用品和纸巾
5. 台式小量离心机（可配离心 1.5ml 离心管和 2ml 离心管的转子）
6. 旋涡震荡器
7. 水浴锅

使用前准备

- 1) 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
- 2) 将水浴锅温度设置到 65℃，并将 Buffer PL 和 Buffer TE 温育至 65℃。
- 3) 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾作好“乙醇已加”的标记。

操作步骤：

1) 在液氮浸没组织的条件下先将约300~500 mg (100~200 mg干燥的植物组织) 植物组织研磨成细小颗粒状，待液氮蒸发后再将组织颗粒快速研磨至粉末状。用液氮预冷的1.5 ml 离心管称取50~100 mg (10~20 mg干燥的植物组织) 研磨成粉末状的组织。

- * 必须将植物组织研磨至粉末状，才能充分破坏植物细胞的细胞壁，否则将严重影响最终DNA的回收效率。
- * 组织研磨过程中应及时补加液氮，避免磨碎的组织颗粒因融化而难以称量。

2) 加入 500 μ l 65 $^{\circ}$ C 预热的 Buffer PL，漩涡振荡 30 秒混匀，65 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟。水浴期间每隔 2~3 分钟翻转离心管数次以帮助 DNA 的释放。

- * 如果从新鲜获取的植物组织中提取DNA，可能会将组织中的RNA一起分离纯化出来，但是RNA的存在并不影响PCR相关的实验。如果要彻底除去RNA，可在本步骤中补加5 μ l RNase A 储存液（100 mg/ml，本试剂盒不提供）。

3) 加入350 μ l Buffer K，盖上管盖，用力摇晃15秒，漩涡振荡30秒。13000 rpm 离心5分钟。

4) 将步骤 3) 中的离心上清液倒入核酸纯化柱（核酸纯化柱置于2ml 离心管中）中，盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。

5) 弃2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入500 μ l Buffer WA，盖上管盖，12000 rpm 离心30秒。

- * 滤液无须彻底弃尽，如果要避免粘附在离心管管口的滤液对离心机的污染，可将 2ml 离心管在纸巾上倒扣拍击一次。

- * 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇。

6) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，在核酸纯化柱中加入 600 μ l Buffer WB，盖上管盖，12000 rpm 离心 30 秒。

- * 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

7) 弃 2ml 离心管中的滤液，将核酸纯化柱置回到 2ml 离心管中，盖上管盖，14000 rpm 离心 1 分钟。

- * 某些植物的色素会残留在纯化柱的滤膜上，但不会溶解在 Buffer TE 中，并不影响所提取的 DNA 的纯度。
- * 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm，则用最高速离心 2 分钟。
- * 请勿省略该步骤，否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的实验效果。

8) 弃 2ml 离心管，将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5ml 离心管中，在纯化柱中加入 100~200 μ l 65 $^{\circ}$ C 预热的 Buffer TE，盖上管盖，室温静置 2 分钟，12000 rpm 离心 1 分钟。

- * 如果离心机没有防泄漏的盖子，请将离心条件改为 8000 rpm 离心 1 分钟，以免管盖脱落而损伤离心机。

9) 弃纯化柱，洗脱的 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将 DNA 储存于-20 $^{\circ}$ C 备用。