

AipBest 植物/真菌基因组 DNA 快速提取试剂盒(离心柱型)
AipBest Plant/Fungus Genomic DNA Rapid Extraction Kit(Centrifugal Column)

使用说明书

◆版本号：240108

◆目录号：OD205

◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次 (OD205-01)	100 次 (OD205-02)	200 次 (OD205-03)
RNase A(10mg/mL)	-20°C	250μL	500μL	1mL
缓冲液 AP1	室温	20mL	40mL	80mL
缓冲液 AP2	室温	7mL	13mL	26mL
缓冲液 AP3/E	室温	15mL	25mL	50mL
漂洗液 WB	室温	13mL	25mL	50mL
洗脱缓冲液 EB	室温	15mL	20mL	40mL
吸附柱 AC 和 收集管(2mL)	室温	50 套	100 套	200 套

◆适用范围：适用于快速提取植物样本/真菌组织细胞基因组 DNA。

◆产品储存：本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

◆储存事项：

1. 缓冲液 AP1、AP3/E 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 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。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

◆产品介绍：

该试剂盒采用 DNA 吸附柱和新型独特的溶液系统，适合于从植物样本/真菌组织细胞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 干燥的植物样本/真菌样品 DNA 的纯化提取。提取过程不需要用到有毒的苯酚

和氯仿等有机物抽提，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、酶切和杂交等相关分子生物学实验。

新鲜或干燥的植物样本/真菌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—离心的操作步骤，进一步将多糖、多酚、细胞代谢物和蛋白等杂质去除，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，得到高纯度基因组 DNA。

◆产品特点：

1. 操作安全，不需要使用有毒的苯酚和氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
2. 操作快速，简单便捷，单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
3. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好，克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
4. 数种去多糖、多酚成份和多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 的典型比值可达 1.7~1.9，可直接用于 PCR、Southern-Blot 和各种酶切反应等相关分子生物学实验。

◆注意事项：

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. 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. 不同来源的真菌组织细胞材料中提取 DNA 的量会有差异，一般 100mg 新鲜组织典型产量可达 3-25μg。
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 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. 真菌种类复杂，没有一种试剂盒可以提取所有种类的真菌 DNA。如果有的真菌多糖多酚含量过于丰富、次级代谢产物太复杂导致本试剂盒效果不佳，可以选择本公司的 CTAB 法柱式植物 DNA 提取试剂盒(货号：PD202)提取真菌，一般该试剂盒对于多糖多酚次级代谢产物复杂的真菌 DNA 提取效果较好。

◆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 和缓冲液 AP3/E 中按照标签提示加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在标签上打钩标记已加入无水乙醇，以免多次加入！

1. 取适量植物样本/真菌组织在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
2. 转移细粉(新鲜组织 100mg 或干重组织 20mg)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(10mg/mL)，旋涡振荡，充分混匀帮助裂解。
注：如果组织裂解困难，可根据需要增加一个轻柔匀浆 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。
可选：多糖含量特别高的时候，可以在 AP1 加入 2% 的 PVP40,000；多酚含量特别高的时候，可以在 AP1 中加入 0.2% 的 β -巯基乙醇。也可两者同时加入。
3. 65 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟，在水浴过程中颠倒离心管 2-3 次，混合样品。
注：此步骤也可室温操作，室温放置 10 分钟，但是 DNA 得率会降低一些。
4. 加入 130 μ L 缓冲液 AP2，充分混匀，冰上放置 5 分钟，13,000rpm 离心 5-10 分钟，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。
注：加入 AP3/E 可能会出现絮状沉淀，但不影响 DNA 提取。注意将 AP3/E 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 AC 中，(吸附柱放入收集管中)13,000rpm 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(请先检查是否已加入无水乙醇!)，13,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
8. 加入 600 μ L 漂洗液 WB，13,000rpm 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，室温放置 3-5 分钟，13,000rpm 离心 1 分钟，收集得到的 DNA。DNA 可以存放在 -20 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在 -70 $^{\circ}$ C 保存。
注：可将第一次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，可以提高 10% 左右的浓度。
注：洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但最小体积不应少于 50 μ L，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少 DNA 产量。

◆问题与解决方法:

问题	评论与建议
DNA 产量低	<ul style="list-style-type: none"> * 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	<ul style="list-style-type: none"> * 真菌 RNA 含量太丰富-建议:提高 RNase A 处理浓度。
未提取到 DNA	<ul style="list-style-type: none"> * 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, 并打钩做好标记。
离心柱堵塞	<ul style="list-style-type: none"> * 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	<ul style="list-style-type: none"> * 漂洗次数不够-建议:步骤 8 完成后, 加 500μL 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	<ul style="list-style-type: none"> * 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。 * 使用了水或者其它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 200μL 洗脱缓冲液洗脱。
A ₂₆₀ 吸光值异常偏高	<ul style="list-style-type: none"> * 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	<ul style="list-style-type: none"> * 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, 让残留乙醇充分挥发。



扫码关注我们