

AipBest 通用植物基因组 DNA 快速提取试剂盒(离心柱型)

AipBest Universal Plant Genome DNA Rapid Extraction Kit(Centrifugal Column)

使用说明书

- ◆版本号：240108
- ◆目录号：PD204
- ◆试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	50 次 (PD204-01)	100 次 (PD204-02)	200 次 (PD204-03)
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
		第一次使用前按说明加指定量乙醇		
漂洗液 WB	室温	13mL	25mL	50mL
		第一次使用前按说明加指定量乙醇		
洗脱缓冲液 EB	室温	15mL	15mL	20mL
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(组织、细胞、真菌)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 分钟内完成一个或多个 100mg 新鲜或 20mg 干燥的植物样品 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(组织、细胞、真菌)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 3-25μg。
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。

◆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(新鲜组织 100mg 或干重组织 20mg,可适当多取一些样品弥补粘在研钵上的损失)在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。

注:研磨前,可准备一个 1.5mL 离心管,加入 400μL 缓冲液 AP1 和 4μL RNase A(10mg/mL)室温备用。

2. 转移细粉(新鲜组织 100mg 或干重组织 20mg)到前面准备的 1.5mL 离心管(已加入

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。

- 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。

- 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。

- 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。

- 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)。

- 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。

- 重复步骤 7 操作一遍。

- 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。

- 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 μ L-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	*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, 并打钩做好标记。
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, 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	*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, 让残留乙醇充分挥发。

=====

