

植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

(无酚、无氯仿、无巯基乙醇、无 RNase A)

使用手册

Ver:260228

- ◇产品编号：DN34
- ◇常温运输、保存（15-25℃）
- ◇本产品仅供科研使用

一、产品概述：

本试剂盒使用全新设计的裂解液，可以在一次离心后，将上清液直接转移到 DNA 吸附柱进行离心，不添加结合液，无需混匀步骤，再经过 2 次漂洗即可得到最终的 DNA 溶液，整个提取过程不使用酚、氯仿、巯基乙醇，不添加 RNase A，无加热步骤。对比常规 DNA 提取流程，可以节省大量操作时间。

样本适用范围：小麦、水稻、玉米、猕猴桃、蓝莓、无花果叶、烟草、樱桃树、葡萄、香菲、鱼腥草、金针菇、西红柿叶、麦冬等。本方法不适合高淀粉含量的样本，如小麦种子、玉米种子。

获得的 gDNA 大小通常介于 40-60kbp，通过 Nanodrop 测得的 DNA 浓度真实可靠，和 Qubit 方法检测的 DNA 浓度基本一致，DNA 纯度高，对后续的建设或 PCR 等酶反应过程几乎不会有抑制，可以满足二代测序对 gDNA 的各种要求，也能满足部分三代测序应用对长片段 gDNA 的要求。

二、规格及组成：

组 分	DN34-50 (50 preps)	DN34-100 (100 preps)
裂解液	50 ml	50 ml × 2
漂洗液 AW1	35 ml	35 ml × 2
漂洗液 AW2	50 ml	50 ml × 2
DNA 洗脱液	10 ml	10 ml
DNA 吸附柱	50 个	100 个
使用手册	1 份	1 份

三、注意事项：

1. 裂解液含有刺激性化合物，建议操作时戴乳胶手套、口罩及护目镜，避免沾染皮肤和衣服。若不慎沾染皮肤、眼睛时，用大量清水或生理盐水冲洗，必要时及时就医。
2. 为确保离心参数一致，本手册使用**相对离心力**来确定离心机的转数，如“**室温，12,000×g 离心 5min**”表示在当前温度下离心 5min，离心机在对应转速下产生的相对离心力约为 12,000 倍地球引力。通常在离心机上被标识为“**RCF**”（Eppendorf）或“**xg**”（Thermo）。

四、使用方法：

1. 取30-100mg植物样本（多糖多酚样本建议不超50mg），根据单次提取的样本数量，参考下列三种研磨方法来破碎样本：

▲液氮机器研磨：

取适量新鲜叶片剪成5-10mm的碎片后，转入2ml研磨管，加入直径3-5mm的钢珠或其它研磨珠，关闭盖子后在液氮中冷冻1-3min，然后迅速转移到[组织研磨仪](#)进行破碎。破碎后的样本呈粉末状，温度较低时呈较浅的绿色，此时立即加入1ml裂解液，立刻涡旋振荡混匀，样本和裂解液

充分混匀后才能在室温下暂存，否则容易导致DNA降解。

▲液氮手工研磨:

在研钵中倒入液氮，加入适量的植物组织样本，在液氮浸泡下迅速将样本研磨成细粉，待液氮刚好完全蒸发时，迅速将样品粉末转入液氮预冷的2ml离心管中，粉末体积建议不超过200ul刻度线，然后及时加入1ml裂解液并立即振荡混匀，也可以放回液氮中暂存，待研磨结束后再加入裂解液。在转移粉末时应注意控制时间，或及时补充少量液氮，防止样本升温导致DNA降解。

▲常温手工研磨:

取适量新鲜植物组织剪成小块放入研钵，加入1ml裂解液，用研钵在室温下将样本研磨成细粉，研磨时必须让样本被裂解液充分浸润，以抑制DNA酶活性。研磨结束后，用1ml移液器将全部液体连同磨碎后的样本转入2ml离心管。



注意: a. 由于液氮冷冻后的样本温度非常低，加入裂解液后，粉末和液体的接触面可能会出现结冰的现象，不利于样本的混匀，需要用涡旋振荡仪振荡至样本完全分散在裂解液中，否则部分样本在未接触裂解液的情况下解冻，可能会引起DNA降解。

b. 样本在破碎后如果不及时加入裂解液，样本粉末会在室温下迅速升温，颜色也会从浅绿色变成深绿色，此时样本中的DNA酶会逐渐恢复活性，容易发生DNA降解。

c. 如果样本数量较多，研磨成粉的样本可以连同研磨管一起平放在干冰上暂存。如果需要将研磨好的样本再放回液氮中暂存，需要避免将研磨管长时间浸没在液氮中，否则液氮可能从盖子缝隙处渗入管内，当从液氮中取出研磨管，并在室温下添加裂解液时，研磨管中残余的液氮会因为受热而快速汽化膨胀，极易引起研磨管炸裂，若经常出现这种情况，需要使用密封性更好的研磨管，并避免研磨管长时间浸没到液面以下。

2. 当样本和裂解液完全混匀后，在室温下静置约5min，让裂解液中的组分完全恢复溶解状态。
3. 将离心管在室温，13,000×g 离心3-5min，沉淀细胞碎片和杂质，以便分离出清澈透明的上清液。
4. 转移700μl上清液到一个DNA吸附柱中，室温，13,000×g 离心1-2min，弃掉收集管中的废液。避免吸入底部杂质。
5. 在DNA吸附柱中加入700μl 漂洗液AW1，室温13,000×g 离心1min，弃滤液。
6. 在DNA吸附柱中加入700μl 漂洗液AW2，室温13,000×g 离心1min，弃滤液。（快速漂洗步骤）

 注意: 大多数情况下使用快速漂洗步骤即可保证最终DNA纯度符合要求，如果样本复杂或纯度偏低，可以每次加入500μl漂洗液，漂洗两次，可以尽可能地提高DNA纯度。

7. 将DNA吸附柱放回到空的收集管中，室温，13,000×g 离心2min。

 注意: 此步非常重要，否则残留的乙醇会影响DNA的使用。

8. 将DNA吸附柱放入一个DNase-free 离心管中，直接在吸附膜的中间部位加50-100μl DNA洗脱液(1×TE,pH7.5)，室温放置3-5min。
9. 室温，13,000×g 离心2min。离心管中溶液即为DNA样品，可以立即使用或存放于-20℃待用。

产品咨询: 18040311981
公司 Q Q: 24111785
公司微信: 右侧二维码
成都百菲特科技有限公司
<http://www.biofit.com.cn>

