

植物基因组 DNA 纯化试剂盒说明书

【产品名称】

植物基因组 DNA 纯化试剂盒

(英文名称: Plant Genomic DNA Kit)

【包装规格】 96T/盒、100 T/盒

【适用范围】 多种植物样本的不同部位, 包括叶片、根茎、种子等, 利用 CTAB 法配合纳米磁珠从植物的组织中提取得到纯净的 DNA, 广泛适用于 PCR、RT-PCR、分子杂交、荧光定量。

【原理】 植物样本经液氮研磨后, 在裂解液作用下破碎细胞, 释放出基因组 DNA。在独特缓冲液系统中纳米磁珠颗粒通过表面修饰的功能基团能与游离的 DNA 特异性的结合, 形成磁珠-DNA 复合物。在外磁场力的作用下, 将磁珠-DNA 复合物转移到洗涤缓冲液中, 洗去多余的杂质。再在外磁场力的作用下转移到洗脱缓冲液中, 将 DNA 洗脱回收。

【主要组成成分】

| 货号 | 031601 | 031602 | 主要成分 |
|------------|---------|----------------|-----------------|
| 试剂盒规格 | 100T | 96T | |
| Buffer APL | 40 mL | 40mL | 表面活性剂和 Tris 缓冲液 |
| Buffer PB | 60 mL | 96 孔预分装试剂板 6 块 | 强变性剂与 Tris 缓冲液 |
| Buffer WA | 30 mL | | 高盐溶液 |
| Buffer WB | 12 mL×2 | | 低盐溶液 |
| Buffer DE | 10 mL | | 低盐溶液 |
| 磁珠悬浮液 | 2 mL | | 羟基磁珠溶液 |
| 说明书 | 1 | 1 | |

注意: 1.若购买的是 031601 使用前请在 30 mL WA 中加入 22mL 无水乙醇, 以及在 12mL WB(每瓶)中加入 48mL 无水乙醇;

2. 本试剂盒不提供无水乙醇(分析纯)、RNase A, 请用户自备;

3. 植物叶片、根、茎、种子需要使用组织研磨仪(球磨仪)配合液氮处理后, 才能进行有效的提取, 超多糖、多酚植物需要准备氯仿。

【储存及有效期】

1. 试剂盒可在常温(15-25℃)干燥条件下保存 12 个月, 更长时间保存可置于 2-8℃, 请在有效期内使用。

2. 2-8℃条件下, 若 Buffer PB 出现沉淀, 使用前应将其置于 55℃孵育 10min, 沉淀溶解后使用。

【适用设备与仪器】

磁性分离架或广州赛百纯生物科技有限公司 MyPure-32 全自动核酸提取仪、恒温金属浴、涡旋振荡器。

【操作方法】

一、若购买的是 031601, 请按照以下手工提取方法进行操作(用户需自备磁性分离架)。

1. 样本处理:

1.1 取植物新鲜样本约 100mg 或干重样本约 30mg, 加入液氮充分研磨。

(若是植物种子, 根据淀粉含量不同, 适当取 10mg~30mg 研磨或粉碎后的粉末进行提取)

1.2 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有 400μL Buffer APL 和 5μL RNase A (100mg/ml 自备)

注: 样本若吸水严重, 请适当减少样品用量或增加 Buffer APL 体积至 800 μL。

1.3 65℃水浴 20~30 min, 若样品含多酚多糖, 可在裂解后的混合物中加入 150μL 氯仿, 涡旋震荡混匀用于萃取。

注: 加热期间颠倒离心管以混合样品数次。

2. 14000×g 离心 10min, 取 200~300μL 上清液至新的离心管中。

3. 加入 600μL Buffer PB 和 20μL 磁珠悬浮液, 振荡混匀 10min。

注: 80℃条件下振荡能有效提高裂解效果。(此处测试常温与 80℃放置 10min 的效果)

4. 将离心管放入磁性分离架上, 静置 1min, 待磁珠完全吸附时吸弃上清, 从磁性分离架上移走离心管。

5. 加入 500μL Buffer WA(已加入无水乙醇)到离心管中, 振荡混匀 30s, 尽可能使磁珠完全分散, 使用磁性分离架吸附磁珠, 吸弃上清, 从磁性分离架上移走离心管。

6. 加入 600μL Buffer WB(已加入无水乙醇)到离心管中, 振荡混匀 30s, 确保磁珠完全分散, 使用磁性分离架吸附磁珠, 吸弃上清。

7. 从磁性分离架上移走离心管, 重复步骤 6 重新洗涤一次。

注: 此步骤应尽量吸弃上清, 以保证提取核酸的质量。

8. 将离心管放入磁性分离架上, 室温开盖干燥 5-10min。

注: 乙醇残留可能会对后续的酶反应产生影响, 所以晾干时要确保乙醇挥发干净。

9. 加入 100μL Buffer DE, 振荡混匀离心管, 此时离心管壁可能会吸附磁珠, 应使用移液器将其吹打下来, 室温静置 5min。

注: 1) 若期望获取更高浓度核酸, 可适当减少洗脱液体积, 推荐洗脱体积: 50-100μL。

2) 65℃条件下能有效提高洗脱效率。

10. 使用磁性分离架吸附磁珠, 小心吸取含 DNA 的上清转移到干净无菌的离心管中备用。若不

立即使用，请放入-20℃保存备用。

二、配套自动化仪器使用，以本公司生产的 MyPure-32 全自动核酸提取仪为例。

1. 试剂准备

a. 若购买的是 031601 请按照如下操作方式进行。

在 96 孔深孔板的第 1、7 列中各加入 600μL Buffer PB，在第 2、8 列中各加入 500μL Buffer WA (已加入无水乙醇)和 20μL 磁珠溶液，在第 3、4 列和 9、10 列中各加入 600μL Buffer WB (已加入无水乙醇)，在第 6、12 列中各加入 100μL Buffer DE。

注：磁珠在使用前必须充分混匀。

b. 若购买的是 031602 请按照如下操作方式进行。

1. 将室温放置的 96 孔试剂板颠倒 3-5 次，有条件的用户可以在去除塑封膜前在 96 孔板离心机中短暂离心，若没有离心机也可以手甩，避免挂液，影响实验结果。小心撕去塑封膜，确认板子的方向（磁珠在 2/8 列）。

2. 在 96 孔板的第 1、7 列中各加入 200~300μL 植物组织上清液，避免交叉污染。

3. 将 96 孔板放入 MyPure-32 全自动核酸提取仪的指定位置中，装上磁棒护套。

4. 请按以下程序进行实验。

| 步骤 | 槽位 | 名称 | 等待时间(秒) | 混合时间(秒) | 磁吸时间(秒) | 混合速度 | 体积 | 加热 |
|----|----|------|---------|---------|---------|------|-----|----|
| 1 | 1 | 裂解 | 0 | 300 | 0 | 快速 | 800 | |
| 2 | 2 | 吸磁珠 | 0 | 10 | 60 | 快速 | 500 | |
| 3 | 1 | 结合 | 0 | 300 | 60 | 快速 | 800 | |
| 4 | 2 | 洗涤 1 | 0 | 60 | 30 | 快速 | 500 | |
| 5 | 3 | 洗涤 2 | 0 | 60 | 30 | 快速 | 600 | |
| 6 | 4 | 洗涤 3 | 0 | 60 | 30 | 快速 | 600 | |
| 7 | 6 | 洗脱 | 60 | 180 | 60 | 快速 | 100 | 65 |
| 8 | 4 | 弃磁珠 | 0 | 20 | 0 | 快速 | 600 | |

5. 仪器程序运行结束后，将第 6、12 列的 Buffer DE 转移至干净的无菌离心管中，若不立即使用，请放入-20℃保存备用。

【产品性能参考数值】

1. 得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。
2. DNA 应在 OD260 处有显著吸收峰，OD260 值为 1 相当于大约 50μg/mL 双链 DNA，40μg/mL 单链 DNA。
3. 提取 DNA OD260/280 比值：1.7-2.0。

【产品局限性】

最适植物新鲜样本：100mg，干重样本：30mg。如果在完成样本前处理操作后，发现裂解产物粘稠，应适当减少植物样本量，特别是对于种子含有较多淀粉的样本可以减少到 10mg 的样本或者更少，淀粉在裂解过程中容易糊化，导致裂解后的样品上清较少，无法提取 DNA。

结果解释：本试剂盒手工提取的效果可能会比仪器提取稍低，可能是人为手工操作的误差造成。

【注意事项】

1. Buffer WA 和 Buffer WB 请按要求加入无水乙醇（分析纯）。
2. 如果保存温度过低，Buffer PB 可能会有少许晶体析出，只需将其加入 55℃的水浴锅中预热 5-10min，确认无晶体析出后再使用，对提取结果无影响。
3. 上述程序仅适用于 MyPure-32 全自动核酸提取仪，如果用户使用其他品牌的核酸提取仪，需根据实际使用的仪器性能进行调整。
4. 试剂可能刺激眼睛、皮肤或黏膜，一旦直接接触，请立即使用大量清水冲洗。

【基本信息】

生产企业：广州赛百纯生物科技有限公司

地址：广州市黄埔区瑞发路 12 号自编 3 栋 401 单元

服务热线：18926136067

邮编：201600

邮箱：sbcteck@126.com

网址：<http://www.surbiopure.com>