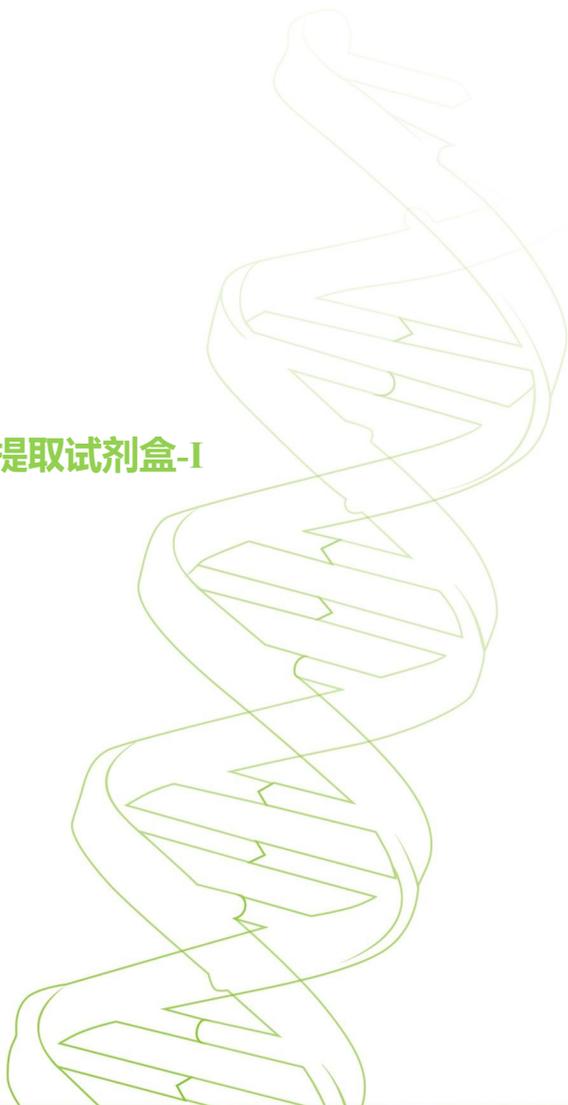


Imagene[®]

快捷型植物基因组 DNA 提取试剂盒-I



CODONNX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES

快捷型植物基因组DNA提取试剂盒-I

目录号：DE140

1/产品介绍：

快捷型植物 DNA 抽提液(添加多种针对植物特点的多糖、多酚去除成份)迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，通过离心清除多糖、多酚和蛋白质，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 - 离心步骤进一步将残留的多糖，多酚和细胞代谢物，蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

2/试剂盒组成、储存、稳定性：

试剂盒组成	保存	DE140 (100 次)
溶液 P1	-20°C	60 ml
溶液 P2	-20°C	15 ml
溶液 P3	-20°C	100ml
RNase A	-20°C	500ul
平衡液	室温	50ml
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	20ml
基因组 DNA 清除柱 CC 和收集管 CT	室温	50 套*2
RNase-free 吸附柱 AC 和收集管 CT	室温	50 套*2

本试剂盒有效期 12 个月。

- * 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇!
- * 将溶液 P1 和洗脱缓冲液 EB 放置在 65°C 预热，溶液 P1 使用前可加入β-巯基乙醇到终浓度 0.2%(也可不加)。
- * 标注-20°C试剂使用时在 1-3 周内存放 4°C即可，长期存放建议-20°C。

3/使用方法:

1. (可选)吸附柱平衡处理: 吸附 AC 中(吸附柱放在收集管中) 加入 500uL 的平衡液, 12,000rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的下滤液, 将吸附柱重新放回收集管中。(请使用当天处理过的柱子。柱平衡后有助于核酸得量的提升。)
2. 取适量植物组织在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
3. 把研磨好的细粉(植物新鲜组织 100 mg 或干重组织 30 mg)转移到一个 1.5mL 离心管不要解冻, 加入 550uL 65°C 预热过的溶液 P1 和 4uLRNase A, 剧烈涡旋振荡混 1 分钟, 室温放置 10 分钟。
4. 加入 130uL 的溶液 P2, 剧烈涡旋振荡混匀 1 分钟, 12,000rpm 离心 3 分钟。
5. 小心吸取上清到分离柱 CC 中, 注意不要吸到沉淀物质, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 收集过滤液。
6. 转移过滤液到一个新的 2 mL 离心管中, 加入 1.5 倍体积的溶液 P3 立刻轻柔涡旋充分混匀。
7. 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) 12000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液(吸附柱 AC 单次上样量最多 700 uL 若样本量大于 700 uL 需分多次过柱。
8. 加入 700uL 漂洗液 WB(请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm 离心 1 分钟弃掉废液。
9. 加入 500uL 漂洗液 WB, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 弃掉废液。
10. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 13,000 rpm 离心 3-5 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。
11. 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 50uL 洗脱缓冲液 EB(洗脱缓冲液事先在 65°C 水浴中预热), 室温放置 3-5 分钟, 12,000rpm 离心 1 分钟收集 DNA。洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 可以 50uL 分两次洗脱, 提高洗脱效率。

4/注意事项:

1. 所有的离心步骤均在室温完成, 离心转速须达到 12,000 rpm 以上。
2. 开始实验前将需要水浴的物品先预热到 65°C 备用。

3. 溶液 P3 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，要用人量清水或者生理盐水冲洗。
4. 洗脱液 EB 不含有整合剂 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。
5. 溶液 P1、溶液 P3 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37°C 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。

