

SteadyPure 植物基因组DNA提取试剂盒 Ver.2

SteadyPure Plant Genomic DNA Extraction Kit Ver.2

Code No. AG21011

包装量: 50 rxns
保存温度: Package 2-1 -20°C
 Package 2-2 室温 (15 ~ 30°C)

➤ 产品概述

SteadyPure 植物基因组 DNA 提取试剂盒 Ver.2 是一种可从简单植物及复杂植物中快速高效提取基因组 DNA 的产品。本产品采用优化的裂解系统，对植物样本具有较强的裂解能力，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，可有效去除蛋白质、盐等杂质。提取的基因组 DNA 完整性好，纯度高，质量稳定可靠。基因组 DNA 溶解于 Elution Buffer 或者灭菌水中，可直接用于 PCR 扩增、qPCR 扩增、文库构建、gDNA 序列分析等。

➤ 安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

【注意：使用后溶液需要收集在废液桶中专门处理。】

如果 Buffer LS-3 Ver.2、Buffer LS-4 Ver.2、Buffer BS-2 Ver.2 或 Buffer WA 不小心溅出，请立刻用清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

➤ 产品组成

RNase A (10 mg / ml) *1	500 μl
50X DTT Buffer *1	700 μl
Buffer LS-3 Ver.2	25 ml
Buffer LS-4 Ver.2	25 ml
Buffer PA	1.6 ml X 2 pcs
Buffer BS-2 Ver.2 ^{*2}	12 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB *3	27 ml
Elution Buffer	10 ml
Plant DNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 pcs

*1: 此两种组分包装于 Package 2-1 中，需放置于 -20°C 保存；其余组分均包装于 Package 2-2 中，室温 (15 ~ 30°C) 保存。

*2: Buffer BS-2 Ver.2 在首次使用前，请添加 18 ml 的无水乙醇 (Buffer BS-2 Ver.2 与无水乙醇体积比为 2 : 3)，混合均匀后在瓶子上做好标记。

*3: Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的无水乙醇 (Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3 : 7)，混合均匀后在瓶子上做好标记。

➤ 实验前准备

1. 无水乙醇、灭菌水、1.5 ml 离心管、水浴锅。
2. 若 Buffer LS-3 Ver.2、Buffer LS-4 Ver.2、Buffer PA 出现沉淀，请于 37°C 溶解后使用。
3. 洗脱结合在 Plant DNA Mini Columns 上的基因组 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65°C 使用，有利于提高 DNA 的洗脱效率。

➤ 保存及运输

保存温度: Package 2-1 -20°C 保存

Package 2-2 室温 (15 ~ 30°C)

运输温度: Package 2-1 干冰运输或 -20°C 冰袋运输

Package 2-2 室温运输

► 注意事项

1. 应尽量使用新鲜的实验材料，以确保提取的基因组 DNA 不被降解。如果样本需要长时间保存，请放置于 -80°C 保存。
2. 使用液氮研磨组织材料时，应随时加入液氮，以确保提取的基因组 DNA 不被降解。
3. 植物基因组 DNA 的收量和完整性，与植物的生长状态有很大关系。一般情况下幼嫩的植物叶片基因组 DNA 含量较高，易于提取获得高品质基因组 DNA。
4. 简单植物材料和复杂植物材料（富含多糖、多酚及油脂）处理方法是不同的。处理简单植物材料请用 Buffer LS-3 Ver.2，处理复杂植物材料请用 Buffer LS-4 Ver.2。如果材料处理不当可能会造成 DNA 收量的降低。
5. 组织材料切勿超过最大起始量，且要充分裂解，否则可能影响收量，甚至会堵塞 Mini Column。如果样本量较大，请适量增加试剂用量或使用多个 Mini Columns 进行纯化操作。
6. 基因组 DNA 需长期保存时，建议用 Elution Buffer 溶出。
7. 洗脱结合于 DNA 制备膜上的基因组 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 $50 \sim 65^{\circ}\text{C}$ 使用，将会提高 DNA 的洗脱效率。

► 操作流程

一般是以 100 mg 植物材料起始，对于 DNA 含量低的植物材料可适当增加起始量。

简单植物材料：

- ◆ 准确称取一定量的植物样本进行液氮研磨，然后向研磨好的样本粉末中迅速加入 500 μl 的 Buffer LS-3 Ver.2、10 μl 的 50X DTT Buffer 和 10 μl RNase A（10 mg/ml），振荡混匀。
- ◆ 将离心管置于 56°C 水浴中加热 10 分钟（加热期间可取出进行颠倒混匀）。

复杂植物材料：（富含多糖、多酚及油脂）

- ◆ 准确称取一定量的植物样本进行液氮研磨，然后向研磨好的样本粉末中迅速加入 500 μl 的 Buffer LS-4 Ver.2 和 10 μl RNase A（10 mg/ml），振荡混匀。
- ◆ 将离心管置于 56°C 水浴中加热 10 分钟（加热期间可取出进行颠倒混匀）。



500 μl Buffer LS-3 Ver.2
10 μl 50X DTT Buffer
10 μl RNase A
56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 分钟
或
500 μl Buffer LS-4 Ver.2
10 μl RNase A
56 $^{\circ}\text{C}$ 水浴 10 分钟

1. 加入 62.5 μl Buffer PA【1/8 体积的裂解液（Buffer LS-3 Ver.2 或 Buffer LS-4 Ver.2）】，充分混匀。冰上放置 5 分钟，12,000 rpm 室温离心 5 分钟。取上清，加入与上清液等体积的 Buffer BS-2 Ver.2，充分混匀。

【注：①请确认 Buffer BS-2 Ver.2 中已经加入了指定体积的无水乙醇。

②若提取核酸含量丰富的简单样本有 RNA 残留（如豆芽），可在取上清后先加入 10 μl RNase A 室温孵育 5 分钟后，再加入与上清等体积的 Buffer BS-2 Ver.2 进行后续操作步骤。】

2. 将上述溶液全部转移至 Plant DNA Mini Column 中，室温静置 1 分钟后，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃滤液。

【注：Plant DNA Mini Column 的最大容积为 750 μl ，转移时如果液体的体积超出最大容积，请分次转移：上样 750 μl 溶液后，离心，弃滤液，然后将剩余溶液再次上样，离心，弃滤液。】

3. 向 Plant DNA Mini Column 中加入 500 μl 的 Buffer WA，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃滤液。

4. 向 Plant DNA Mini Column 中加入 750 μl 的 Buffer WB，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃滤液。

【注：请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的无水乙醇。】

5. 重复步骤 4 一次。

6. 将 Plant DNA Mini Column 安置于新的 2 ml Collection Tube 上，12,000 rpm 室温离心 2 分钟。

【注：此步骤需竖直将吸附柱取出，避免吸附柱柱头触碰收集管壁；安装于新的 2.0 ml Collection tubes 中有利于提高 DNA 纯度。】

7. 将 Plant DNA Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管上，在 Plant DNA Mini Column 膜的中央处加入 50 μl 的 Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 2 分钟，然后 12,000 rpm 离心 2 分钟洗脱得到 DNA 溶液，可直接用于后续实验或 -20°C 保存。

【注：①将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 $50 \sim 65^{\circ}\text{C}$ 使用时有利于提高洗脱效率。

② Elution Buffer 或灭菌水的添加量可根据实际需求的 DNA 浓度调整，若需求较高浓度的 DNA，可适当降低 Elution Buffer 或灭菌水的添加量（例：30~50 μl ）。

③ 如需获得更大收量，可将离心液重新加入到 Mini Column 膜的中央，重复按照步骤 7 进行洗脱一次。】



1/8 体积 Buffer PA
冰上 5 分钟，离心取上清
上清等体积 Buffer BS-2 Ver.2



500 μl Buffer WA 洗一次
750 μl Buffer WB 洗两次



50 μl 洗脱液，离心