

SteadyPure 植物基因组DNA提取试剂盒

Code No. AG21011

SteadyPure Plant Genomic DNA Extraction Kit

包装量: 50 rxns
保存温度: Package 2-1 -20°C
Package 2-2 RT (15-25°C)

产品概述

SteadyPure 植物基因组 DNA 提取试剂盒旨在给客户提供一种快速、简单、经济实惠的植物样本基因组 DNA 制备方法。使用本试剂盒提取所得 DNA 溶解于水或者 Tris 缓冲液中，可直接用于PCR扩增、DNA 序列分析等。

安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请佩戴合适的实验服、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。

如果缓冲液不小心溅出，请立刻用大量清水冲洗，然后用浓度为1%的次氯酸钠溶液清洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

产品组成

RNase A (10 mg/ml) *1	500 μl
50×DTT Buffer *1	700 μl
Buffer LS-3	25 ml
Buffer LS-4	25 ml
Buffer PA	1.6 ml X 2
Buffer BS-2	25 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB *2	27 ml
Elution Buffer	10 ml
Plant DNA Mini Columns	50 套
Collection tubes	50 支

*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(15-25°C) 保存。

*2 Buffer WB 在首次使用前，请添加 63 ml 的 100% 乙醇（使得 Buffer WB: 无水乙醇为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、1.5ml离心管、水浴。

2) 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 50-65°C使用，将会提高 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 (15-25°C) 保存 (温度较低时有的组分会出现沉淀，使用前可以 37°C 加热直至沉淀消失，然后使用)

运输温度: Package 2-1 使用干冰或-20°C冰袋运输；

Package 2-2 于室温运输。

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) 基因组 DNA 需长期保存时，建议用 Elution Buffer 溶出。

4) 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。

5) 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 50-65°C 使用，将会提高 DNA 的洗脱效率。

- 6) 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。一般情况下植物种子及幼嫩的植物材料 DNA 含量较高，易于提取获得高品质基因组 DNA。
- 7) 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，处理复杂植物材料请用 Buffer LS-4。如果材料处理不当可能会造成 DNA 收量的降低。

➤ 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迅速加入 500 μ l 的 Buffer LS-3 和 10 μ l 的 50 \times DTT Buffer，再加入 10 μ l RNase A，振荡混匀。
- ◆ 将离心管置于 56 $^{\circ}$ C 水浴中加热 10 min（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迅速加入 500 μ l 的 Buffer LS-4，然后加入 10 μ l RNase A，振荡混匀。
- ◆ 将离心管置于 56 $^{\circ}$ C 水浴中加热 10 分钟（加热期间可取出进行颠倒混匀）。



500 μ l Buffer LS-3
10 μ l 50 X DTT Buffer
10 μ l RNase A

56 $^{\circ}$ C 水浴 10 min

或

500 μ l Buffer LS-4
10 μ l RNase A (10mg/ml)

56 $^{\circ}$ C 水浴 10 min

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



1/8 体积 Buffer PA
冰上 5min，离心

- 2) 将上述溶液转移至 Plant DNA Mini Column 中（溶液较多一般需要分两次过柱，每次过柱的体积量不要超过 750 μ l），室温静置 1 min 后，室温下 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。

- 3) 向 Mini Column 中加入 500 μ l 的 Buffer WA，12,000 rpm 离心 1 分钟，弃滤液。

- 4) 向 Mini Column 中加入 750 μ l 的 Buffer WB，12,000 rpm 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 100% 乙醇。）

- 5) 重复步骤 4) 一次。

- 6) 将 Mini Column 安置于新的 2 ml Collection Tube 上，12,000 rpm 离心 2 分钟。



500 μ l Buffer WA 洗一次
750 μ l Buffer WB 洗两次

- 7) 将 Mini Column 安置于新的 1.5 ml 的离心管上，在 Mini Column 膜的中央处加入 50 μ l 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 DNA。

（注：将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50-65 $^{\circ}$ C 时使用有利于提高洗脱效率。）

- 8) 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。



50 μ l 洗脱液、离心