

SteadyPure 植物基因组DNA提取试剂盒 (CTAB法)

Version 1

SteadyPure Plant Genomic DNA Extraction Kit (CTAB)

Code No. AG21026

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

产品概述

SteadyPure 植物基因组 DNA 提取试剂盒 (CTAB法) 旨在给客户提供一种快速简单、经济实惠、高收量、高质量的植物样本基因组 DNA 制备方法, 特别适合复杂植物基因组 DNA 的提取。本制品将经典的 CTAB 法同硅胶柱纯化技术相结合, 可从小于 100 mg 新鲜或冻存植物样本, 以及小于 30 mg 干燥的植物样本中提取高质量的基因组 DNA。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

1. 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。
2. 如果 Buffer LS-5 或 Buffer WA 不小心溅到皮肤表面, 请立刻擦拭并用大量清水冲洗。
3. 详细信息请参考相关 MSDS 信息。

产品组成

RNase A (10 mg / ml) *1	500 µl
Buffer LS-5	40 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB*2	27 ml
Elution Buffer	10 ml
Plant DNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 pcs

*1: RNase A (10 mg / ml) 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 WB 在首次使用前, 请添加 63 ml 的 100% 乙醇 (Buffer WB 与 100% 乙醇体积比为 3 : 7), 混合均匀后在瓶子上做好标记, 室温下保存。

实验前准备

1. 自备: 液氮、氯仿、100% 乙醇、70% 乙醇、灭菌水、2 ml 离心管、1.5 ml 离心管。
2. 洗脱结合于 DNA 制备膜上的基因组 DNA 时, 将 Elution Buffer 加热至 50 ~ 65°C 使用, 将会提高 DNA 的洗脱效率。
3. Buffer WB 在首次使用前, 请添加 63 ml 的 100% 乙醇 (Buffer WB 与 100% 乙醇体积比为 3 : 7), 混合均匀后在瓶子上做好标记, 室温下保存。

保存及运输

保存温度: Package 2-1 -20°C 保存;
 Package 2-2 室温 (15 °C ~ 30°C) 保存。

运输温度: Package 2-1 干冰运输或 -20°C 冰袋运输;
 Package 2-2 室温 (15 °C ~ 30°C) 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. 组织材料切勿超过最大起始量 (新鲜或冻存植物样本为 100 mg, 干燥的植物样本为 30 mg), 且要充分裂解, 否则会堵塞 Plant DNA Mini Columns, 影响 DNA 收量及纯度。如果样本量较大, 请适当增加试剂用量。
4. Plant DNA Mini Columns 的最大容积为 750 µl, 使用时如果液体的体积超出最大容积, 请分批次加入: 上样 750 µl 裂解液后, 离心, 去滤液, 然后将剩余裂解液再次上样, 重复此步骤。或使用多个 Plant DNA Mini Columns 进行纯化操作。
5. 洗脱结合于 Plant DNA Mini Columns 上的基因组 DNA 时, 将 Elution Buffer 加热至 50 ~ 65°C 使用, 将会提高 DNA 的洗脱效率。

▶ 样本起始量推荐

本产品单次可从小于 100 mg 新鲜或冻存植物样本、小于 30 mg 干燥的植物样本中提取高质量的基因组 DNA。合适的样本量是获得理想收量和纯度的关键。样本量过多会导致裂解不充分、堵塞纯化柱等问题，最终导致 DNA 的收量及纯度降低。初次使用本产品时，新鲜或冻存的植物样本起始量建议 50 mg、干燥的植物样本起始量建议 15 mg，再根据实验结果调整起始量，以达到最佳提取效果。

▶ 操作流程

1. 准确量取 700 μ l 的 Buffer LS-5 于 2 ml 离心管中。

2. 取一定量的植物样本进行液氮研磨，然后将适量研磨好的样本粉末迅速加入上述含有裂解液的 2 ml 离心管中，剧烈涡旋混匀，使样本充分分散。

3. 将离心管置于 65°C 水浴中加热 20 分钟。

【注：加热期间可取出，进行颠倒混匀；裂解时间可根据样本裂解的难易程度调整，对于难裂解的植物样本可延长裂解时间。】



700 μ l Buffer LS-5
65°C 水浴 20 分钟

4. 加入 700 μ l 氯仿于上述加热后的离心管中，剧烈涡旋混匀 30 秒。

5. 12,000 rpm 室温离心 5 分钟，溶液分为三层，小心转移上清液至新的 2 ml 离心管中。

6. 加入 10 μ l RNase A (10 mg/ml) 至上清液中，充分振荡混匀，室温放置 10 分钟。

7. 加入 1.5 倍上清液体积的 70% 乙醇，充分吹打混匀。

【注：某些核酸含量丰富的样本在此步骤加入 70% 乙醇混匀后可能会出现絮状沉淀，若沉淀可吹散，则吹打混匀后全量转移至 Plant DNA Mini Columns；若沉淀难以吹散，可能会导致基因组 DNA 的收量大大降低；可尝试将 1.5 倍体积的 70% 乙醇分批加入后混匀（先加入 0.75 倍体积的 70% 乙醇后，吹打混匀，再加入 0.75 倍体积的 70% 乙醇，吹打混匀），可避免絮状沉淀产生。】



700 μ l 氯仿
10 μ l RNase A (至上清液)
1.5 倍上清液体积 70% 乙醇

8. 将上述溶液转移至 Plant DNA Mini Columns 中，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃滤液。

【注：溶液较多一般需要分 3 次过柱，每次过柱的体积量不要超过 750 μ l。】

9. 向 Plant DNA Mini Columns 中加入 500 μ l 的 Buffer WA，12,000 rpm 室温离心 1 分钟，弃滤液。

10. 向 Plant DNA Mini Columns 中加入 750 μ l 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 100% 乙醇。】

11. 重复步骤 10 一次。

12. 将 Plant DNA Mini Columns 安置于新的 2 ml 收集管中，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 ml 收集管中有利于提高 DNA 纯度。】



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

13. 将 Plant DNA Mini Columns 安置于新的 1.5 ml 的离心管上，在 Plant DNA Mini Columns 膜的中央处加入 50 ~ 200 μ l 的 Elution Buffer 或灭菌水，室温静置 2 分钟，然后 12,000 rpm 室温离心 2 分钟洗脱 DNA。溶解后的 DNA 可直接使用或放入 -20°C 中保存。

【注：将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65°C 时使用有利于提高洗脱效率。针对起始量较大或 DNA 含量较高的样本，如需获得更大收量，可尝试将离心液重新加入到 Plant DNA Mini Column 膜的中央，按照步骤 13 重复洗脱一次。】



50 ~ 200 μ l 洗脱液，离心