植物基因组DNA小量抽提试剂盒(离心柱式)

产品货号：27036

产品规格：50次/200次

产品简介：

乐业的植物基因组DNA小量抽提试剂盒(离心柱式) (Plant Genomic DNA Purification Mini Spin Kit)是一种能从不同植物物种和组织类型中快速、高效地小量提取基因组DNA的试剂盒。本试剂盒采用离心柱方式提取DNA，无需使用有毒的苯酚-氯仿提取或耗时的酒精沉淀，更安全且节约时间，适用于不同植物的根、茎、叶片和芽等部位的基因组DNA提取。

本试剂盒具有稳定、高效、安全、便捷的优点。植物样品在液氮研磨后与裂解液孵育，或在裂解液中进行研磨，然后离心取上清溶液加入到纯化柱内。通过高速离心，使DNA在穿过纯化柱的瞬间，结合到纯化柱上，随后通过两次洗涤去除各种杂质，最后通过洗脱液把DNA洗脱下来。整个过程无需酚氯仿抽提，无需酒精沉淀，样品裂解后仅需约30分钟即可获得植物基因组DNA。

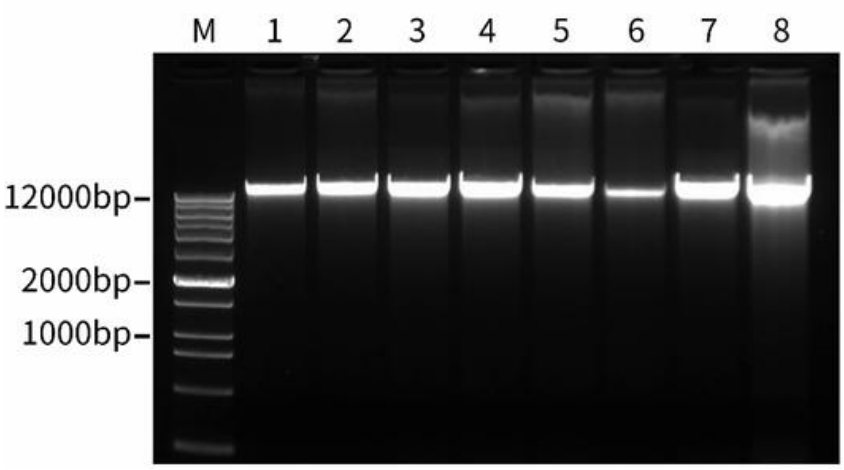
对于多糖多酚含量较高的植物样品或想要获得高纯度、高质量的基因组DNA的植物样品，推荐使用乐业的多糖多酚植物基因组DNA小量抽提试剂盒(离心柱式)。

通过本试剂盒获得的植物基因组DNA，OD260/OD280的范围通常在1.7至1.9之间。

本试剂盒可以从20-100mg植物样品中抽提获得约1-10μg的基因组DNA，可以根据植物材料不同调整起始重量，使用的样品过多，反而会影响抽提效果。对于比较珍贵或质量非常少的样品，使用20mg新鲜植物样品也可以获得比较理想的抽提效果。纯化后获得的DNA可用于后续多种分子生物学实验，如PCR、酶切、文库构建和Southern blot等。

本试剂盒的标准操作步骤抽提得到的植物基因组DNA会含有少量RNA，但如果按照可选步骤加入RNase A，就可以获得不含RNA的高纯度DNA。含有RNA的DNA可以用于PCR，但对于某些其它的后续反应可能会产生一些影响。

使用本试剂盒提取不同物种植物叶片的基因组DNA效果请参考图1。



M: DNA Ladder
1/2: old/new leaves of *Arabidopsis thaliana*
3/4: old/new leaves of *Nicotiana benthamiana*
5/6: old/new leaves of *Epipremnum aureum*
7/8: old/new leaves of *Vigna radiata*

图1. 乐业植物基因组DNA小量抽提试剂盒(离心柱式) 提取不同植物新老叶片的基因组DNA效果图。采集100mg四种植物的新叶和老叶叶片加入液氮进行充分研磨后将样品恢复室温，先后加入500μl裂解液A和500μl裂解液B，混匀后65ºC水浴孵育裂解20分钟后，室温离心取上清溶液转移至纯化柱进行结合、洗涤和洗脱，洗脱体积均为100μl，最后进行1%琼脂糖凝胶电泳和核酸染色和荧光成像分析。电泳结果如图所示，不同物种植物新老叶片提取的基因组DNA的浓度和质量

都较高。经过定量分析，100mg植物叶片样品最终纯化获得的基因组DNA含量分别约为：拟南芥(Arabidopsis thaliana)老叶2.3μg/新叶2.8μg、烟草 (Nicotiana benthamiana)老叶3.7μg/新叶3.8μg、绿萝(Epipremnum aureum)老叶2.9μg/新叶2μg、绿豆(Vigna radiata)老叶4μg/新叶4.8μg。M, DNA marker:DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) 。实际检测效果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图片数据仅供参考。

纯化柱对于DNA的最大结合容量约为30μg。

本试剂盒小包装和中包装分别可以抽提50个和200个植物样品的基因组DNA。

包装清单：

产品名称	50次	200次	保存条件
样品裂解液A	28ml	110ml	室温
样品裂解液B	28ml	110ml	室温
洗涤液I	21ml(第一次使用前加入7ml无水乙醇)	84ml(第一次使用前加入28ml无水乙醇)	室温
洗涤液II	30ml(第一次使用前加入45ml无水乙醇)	120ml(第一次使用前加入180ml无水乙醇)	室温
洗脱液	15ml	60ml	室温
DNA纯化柱及废液收集管	50套	200套	室温

使用说明：

1. 采集 20-100mg 的新鲜植物样品或 20mg 干重植物材料于 1.5ml 管中，加入液氮进行充分研磨。

   注1：请勿使用过多的样品，否则会导致抽提效果下降。新鲜或冻存的植物样品均可，对于水分较多或DNA含量低的植物材料可适当增加样本量。充分研磨是提取高质量DNA的关键，可提高裂解效果。研磨后的植物样品如果不立刻进行后续操作步骤，可在-80ºC冻存，切勿反复冻融。

   注2：对于比较珍贵或质量非常少的样品，使用20mg新鲜植物样品也可以获得比较理想的抽提效果。

2. 加入 500μl 样品裂解液 A，Vortex 混匀。

   注1：加入裂解液A前请确保研磨后的粉末恢复至室温，否则容易vortex不充分，造成裂解不完全。

   注2：步骤1也可以不进行液氮冷冻和研磨，而是在加入500μl样品裂解液A后，使用适当的研磨或匀浆设备进行研磨或匀浆。推荐使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48)。

3. (选做)清除 RNA。如果希望获得不含 RNA 的高纯度总 DNA，加入 10μl 10mg/ml RNase A，Vortex 混匀。室温(15-25ºC)放置 2 分钟。

   注1：RNase A的使用量可根据样品起始量的多少而作调整。

   注2：如果残余的少量RNA对后续实验没有干扰，可以不进行本步骤的实验操作，直接进入步骤4。

4. 加入 500μl 样品裂解液 B，Vortex 混匀。65ºC 孵育 20 分钟。

   注：加入样品裂解液B后需立即Vortex混匀。孵育期间可以取出样品Vortex 1-2次，可加快裂解速度并确保沉淀不聚集在管底。

5. 将孵育后的植物样品溶液，室温 8000×g 离心 10 分钟。

6. 取离心后的上清溶液加入到 DNA 纯化柱内，室温静置 5-20 分钟；室温 12000×g 离心 2 分钟。倒弃废液收集管内液体。

   注1：进行本步骤前需将纯化柱置于废液收集管上。倒弃废液后回收废液收集管。上清溶液可分为多次加入纯化柱内，纯化柱一次最多可加入700μl上清溶液。

   注2：不要将沉淀转移到DNA纯化柱内，否则会堵住纯化柱膜，严重影响抽提效果！

7. 加入 500μl 洗涤液 I (使用前请确认是否已加入无水乙醇)，室温 12000×g 离心 1 分钟。倒弃废液收集管内液体。

   注：进行本步骤前需将纯化柱置于废液收集管上。倒弃废液后回收废液收集管。

8. 加入 700μl 洗涤液 II (使用前请确认是否已加入无水乙醇)，室温 18000×g 离心 1 分钟。倒弃废液收集管内液体。

注：进行本步骤前需将纯化柱置于废液收集管上。倒弃废液后回收废液收集管。

9. 重复步骤 8，再次洗涤 1 次。
10. 室温 18000×g 离心 1 分钟，去除残留的乙醇。
    注：不可把步骤9的离心时间延长而省略本步骤。倒弃废液后再离心可以确保充分去除残留的乙醇。
11. 将 DNA 纯化柱置于新的 1.5ml 离心管上，打开管盖室温晾干 1 分钟，加入 50-100μl 洗脱液，室温放置 1-3 分钟。室温 18000×g 离心 1 分钟，所得溶液即为纯化得到的植物基因组 DNA。
    注：洗脱液体积可根据不同植物及所需的基因组DNA含量作调整。洗脱液需要直接加至纯化柱管内柱面中央，使液体被纯化柱吸收。如果有必要，可以使用去离子水或TE进行洗脱。使用较小体积的洗脱液可以使获得的基因组DNA的浓度较高，但洗脱下来的DNA量相对较少。如果对于获得较多量的DNA非常重要，可以在第一次用100μl洗脱液洗脱后，再加入100μl洗脱液重复洗脱一次。第二次洗脱可以增加产量10-80％，特别是当第一次洗脱下来的DNA大于10μg时，第二次洗脱可以获得第一次洗脱时50-80%的量。一次性加入多于200μl的洗脱液对洗脱效果的改善相对不太明显。
12. 植物样品基因组 DNA 浓度和纯度的检测。
    可通过1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计测量样品在OD260nm和OD280nm处的吸光值和OD260/OD280的比值。OD260数值为1时相当于大约50μg/ml的双链DNA、40μg/ml的单链DNA。如果使用去离子水进行洗脱，OD260/OD280比值会偏低，但不代表纯度低。

注意事项：

1. 尽可能使用新鲜的植物样品，以确保提取获得完整的、质量较高的基因组 DNA。
2. 如需制备不含 RNA 的高纯度基因组 DNA，需自备 RNase A，推荐选购乐业 RNase A。
3. 温度较低时样品裂解液 A 和样品裂解液 B 中可能会有沉淀产生，属正常现象。使用前必须检查一遍。如有沉淀，55ºC 水浴孵育使沉淀溶解，混匀后使用。
4. 第一次使用前洗涤液 I 需添加 7ml/28ml 无水乙醇，洗涤液 II 需添加 45ml/180ml 无水乙醇，混匀，并在瓶上做好标记。
5. 本试剂盒需配合使用水浴锅或金属浴仪、电动研磨仪/研钵、研磨棒、涡旋振荡器、高速离心机，请提前作好准备。
6. 请小心使用液氮，防止被液氮冻伤。样品从液氮中取出时，应立即打开管盖防止温差造成的离心管炸裂，同时液氮研磨样品时需不断添加液氮。推荐使用 TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48)，以避免使用液氮。
7. 除特别说明外，每次 Vortex 应控制在 15 秒内。
8. 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。所有离心也均在室温进行。
9. 废液收集管在一次抽提中需多次使用，切勿中途丢弃。
10. 洗脱离心柱膜内的 DNA 时，可以将洗脱液加热至 65ºC，能够提高植物基因组 DNA 的洗脱效率。
11. 洗涤液 I、洗涤液 II 对人体有害或有刺激性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
12. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
13. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

常见问题：

1. 为什么纯化获得的基因组 DNA 偏少？

a. 与植物样品有关，有些植物的 DNA 产量本身较低(例如拟南芥推荐起始量为 200mg)，如样品较老、不新鲜、水分含量多和多糖多酚含量较高等。
b. 洗脱不充分，洗脱液一定加入吸附柱的膜中央，避免残留在吸附柱侧壁上，可适当增加洗脱体积或洗脱次数。
c. 吸附柱膜内残留乙醇，确保空柱离心 1 分钟后开盖晾干，使残留的乙醇完全挥发。
d. 吸附柱膜发生破损，尽量避免吸头直接触碰。
e. 植物材料样品过多或植物样品研磨不充分，导致裂解不充分。此时可适当减少植物材料用量，并充分研磨。
f. 洗涤液中未加入无水乙醇。

扫一扫 加微信
郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799
Q Q：807961520 731791866
邮箱：zzlybio@126.com

g. 研磨不充分，基因组 DNA 抽提效率下降。
h. 样品裂解液 A 中出现沉淀未溶解，未能和样品充分裂解。
i. 孵育裂解时间过短或过长，一般建议孵育时间不短于 15 分钟，不超过 60 分钟。
2. 为什么纯化柱会出现堵塞？
a. 吸取 DNA 上清溶液时吸到了部分沉淀，可使用 200μl 吸头分次小心吸取上清溶液。
3. 为什么基因组 DNA 纯度不高？
a. 未加入 RNase A，可按使用说明的要求加入清除 RNA 的步骤。
b. 吸附柱膜内残留乙醇，确保空柱离心 1 分钟后开盖晾干，使残留的乙醇完全挥发。
c. 洗涤不充分。
4. 为什么 DNA 完全或部分降解？
a. 植物取材不新鲜或反复冻融，可以取新鲜植物样品，低温保存来避免。
b. 环境中 DNase 污染。
c. 提取过程操作过于剧烈，可以在裂解后的操作适当轻柔。
5. 为什么电泳的 DNA 条带模糊或加样孔位置较亮？
a. DNA 上样量过多，可以按照胶孔体积适当加入。
b. 有蛋白等杂质污染。
c. DNA 完全或部分降解。
d. 电泳条件不对或需要更换使用新的电泳缓冲液。
e. 一些较大的基因组会堵在孔中，较难发生电泳迁移，造成孔内较亮。
f. 琼脂糖凝胶浓度较高会造成孔内较亮，合适的凝胶浓度通常宜为 0.8-1%。

有效期：

室温保存，一年有效。

扫一扫 加微信
郑州乐业生物科技有限公司
Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号
免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799
Q Q：807961520 731791866
邮箱：zzlybio@126.com