北京博凌科为生物科技有限公司
Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.
Tel:010-57158602/52872342/80773165（Fax）
Http://www.blkwbio.com/
E-mail:blkwbio@blkwbio.com

- 快捷型植物基因组DNA提取试剂盒
- 目录号 **1434**
- 使用手册
- 实验室使用，仅用于体外

快捷型植物基因组 DNA 提取试剂盒

目录号：1434

目录编号	包装单位
143401	**50次**
143402	**100次**
143403	200次

❖ **试剂盒组成、储存、稳定性：**

试剂盒组成	保存	50 次	100 次	200 次
缓冲液 AP1	**室温**	**25 ml**	**50 ml**	**100 ml**
缓冲液 AP2	**室温**	**10 ml**	**20 ml**	**40 ml**
DNA 溶解液	**室温**	**10 ml**	**10ml**	**20 ml**
RNase A(10mg/ml)	**-20℃**	**250 μl**	**500 μl**	**1ml**

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项**:**

1. 缓冲液 AP1、AP2 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37℃-65℃水浴几分钟帮助重新溶解，**不要剧烈摇晃**，以免形成过量的泡沫。**恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。

2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ **产品介绍：**

本试剂盒采用独特的缓冲液系统，特别适合从植物干粉或者新鲜植物材料中提取

基因组 DNA。无需酚/氯仿抽提，使用安全方便，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。对样品的起始重量没有限制，实验者可根据自己的需求灵活调整。提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

❖ **产品特点：**

1. 不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂。
2. 快速，简捷，操作整个过程可在 1 个小时内完成。
3. 结果稳定，产量高（比离心柱型的产量高一倍以上），OD260/OD280 典型的比值达 1.7～1.9，长度可达 50Kb-150kb，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应以及文库构建。

❖ **注意事项：**

1. **所有的离心步骤均在室温完成**，使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机，如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 用户需自备异丙醇、70％乙醇、液氮研钵、水浴箱。
3. 开始实验前将需要的水浴先预热好备用。
4. 本试剂盒为溶液型，可以很容易的按照比例扩大或者缩小每次处理的量，请联系我们索取其它处理量的操作手册。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

1. 取适量植物组织（新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg）在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
2. 转移细粉到一个 1.5ml 离心管，不要解冻，加入 400μl 缓冲液 AP1 和 4μl RNase A(10 mg/ml)，旋涡振荡，充分混匀帮助裂解。

如果组织裂解困难，可根据需要加一个轻柔匀浆 10 秒的步骤帮助裂解。大多数情况下不需要离心去除未完全裂解的组织，因为后面有一个离心去除的步骤。

3. 65℃水浴 10 分钟，在水浴过程中颠倒离心管 2-3 次，混合样品。

4. 加入 130 μl 缓冲液 AP2，充分混匀，冰上放置 5 分钟， 14,000 rpm 离心 5 分钟，小心吸取上清到一个新的 1.5ml 离心管，注意不要吸到界面物质。

5. 可选步骤：将上清液再次 14,000 rpm (~13,400×g)离心 5 分钟，小心缓慢吸取上清到一个新的 1.5ml 离心管中，不要吸到沉淀。
   此步骤目的为去除上清液中的沉淀杂质，使提取基因组 DNA 纯度更高。

6. 加入 0.7 体积的室温异丙醇（例如 500μl 的上清液加 350μl 异丙醇），颠倒 30 次混匀或者直到出现棉絮状（丝状）白色 DNA 沉淀。

7. 12,000rpm 离心 2 分钟，在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块，倒弃上清。

8. 加入 1ml 70％乙醇，颠倒几次漂洗 DNA 沉淀，12,000rpm 离心 1 分钟， 倒去上清（注意不要把 DNA 沉淀倒掉了），倒置后在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇，还可以用枪头小心吸掉管底沉淀周围和管壁的残留乙醇，空气晾干沉淀几分钟。
   注意不要干燥过头，否则 DNA 极其难溶；也不能残留太多乙醇，否则乙醇可能抑制下游如酶切反应。

9. 加入适量 DNA 溶解液重新水化溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65℃温育 30-60 分钟（不要超过一小时），期间不时的轻弹管壁帮助重新水化 DNA。也可以在室温或者 4℃放置过夜来重新水化 DNA。

10. DNA 可以存放在 2-8℃，如果要长时间存放，可以放置在－20℃。