

## 30min 植物基因组 DNA 提取试剂盒说明书

本产品仅供体外研究使用，不得用于临床诊断

### 描述:

该试剂盒采用独特的裂解液，可快速可靠的从多糖、多酚含量较高的植物组织样品中纯化出高纯度的 DNA。应用本试剂盒提取的 DNA 可直接用于限制性酶切反应、PCR、文库构建、Southern 杂交等多种分子生物学实验。

### 组分:

名称	数量
Plant AP1	35 ml
Plant AP2	12.5 ml
Plant LB3	25 ml
Washing Buffer (已含乙醇)	55 ml
蛋白酶 K (20 mg/ml)	1 ml
Rnase A (20 mg/ml)	0.25 ml
DNA Elution Buffer	10 ml
吸附柱	50 套
收集管	50 个

### 注意事项:

- (1) 本试剂盒中的 Washing Buffer 中已经加乙醇，无需单独添加。
- (2) 蛋白酶 K 和 Rnase A 长期保存请储存于-20℃，短期室温保存 (6 个月)，其它组分储存于室温。
- (3) Plant AP2 含有 CTAB，室温储存会出现白色沉淀，使用前放置于 56℃水浴锅中溶解后使用。
- (4) 自备试剂：氯仿。

### 操作方法

#### (1) 样本组织悬液制备

**研钵研磨法:** 在 1.5 ml EP 管中加入 600  $\mu$ l 的 Plant AP1 裂解液，并在管盖上加入 5  $\mu$ l 的 Rnase A。将研磨后的植物组织 (干重 40~60 mg，湿重 150 mg) 加入到 Plant AP1 裂解液中，漩涡震荡混合 15s。

**钢珠研磨法:** 在研磨 EP 管中加入 700  $\mu$ l 的 Plant AP1 裂解液，加入植物组织 (干重 50~80 mg，湿重 200 mg)，并加入钢珠进行研磨，研磨完毕后，取 600  $\mu$ l 的组织悬液到新的 1.5 ml EP 管中，并在管盖上加入 5  $\mu$ l 的 Rnase A。

(2) 向上述组织悬液中加入 250  $\mu$ l Plant AP2 裂解液，漩涡混合 15s，56°C 水浴锅（或室温）静置 5min，以消化 RNA。

(3) 向上述溶液中加入 20  $\mu$ l 蛋白酶 K，漩涡混合 10s，于 56°C 水浴锅（或室温）中消化 5~15min。

(4) 13,000rpm 离心 5min，吸取 600  $\mu$ l 上清到新的 1.5ml EP 管中，并加入 500  $\mu$ l 的氯仿，漩涡混合 15s。

(5) 13,000rpm 离心 2min，溶液将分为无色上层水相（DNA）、中间层（蛋白）和绿色下层油相（酚类）。

(6) 吸取 400  $\mu$ l 上层无色上清液到新的 1.5 ml EP 管中，并加入 450  $\mu$ l 的 Plant LB3 溶液，漩涡 10s 后，倒入到吸附柱中，13,000rpm 离心 1min。

(7) 倒掉废液。向吸附柱中加入 500  $\mu$ l Washing Buffer，13,000rpm 离心 15s。重复此步骤一次。

(8) 将吸附柱重新放回离心机，13000rpm 空离心 2min，将残留的乙醇彻底甩干。

(9) 将吸附柱芯放入到 1.5 ml 收集管中，向吸附柱芯中加入 60~150  $\mu$ l DNA Elution Buffer，室温放置 1min，13,000rpm 离心 1min，洗脱液即为基因组 DNA，冷冻保存。