



## 多酚类植物组织 gDNA 提取试剂盒

(离心柱型)

产品编号	规格
K319-S	100 次
K319-L	200 次

### 产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心柱和独特的缓冲液系统，提取多种植物细胞中的基因组 DNA。离心柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，能够高效、专一吸附 DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的植物基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。

## 一、试剂盒组成、储存条件

试剂盒组成	保存	K319-S	K319-L
裂解液 (GP1)	室温	80mL/瓶×1 瓶	160 mL /瓶×1
结合液 (GP2)	室温	80mL/瓶×1 瓶	160 mL /瓶×1
洗液 1(wash1)	室温	36 mL/瓶×1 瓶	72 mL/瓶×1 瓶
洗液 2(wash2)	室温	18 mL/瓶×1 瓶	36mL/瓶×1 瓶
Elution Buffer	室温	5mL /瓶×1 瓶	10 mL /瓶×1 瓶
吸附柱 C1	室温	100 个	200 个
2mL 收集管	室温	100 个	200 个
说明书	室温	1 份	1 份

本试剂盒室温下保存 12 个月不影响使用效果。低温条件下保存时，若结合液 ( GP2 ) 产生沉淀，请先将结合液 ( GP2 ) 室温 ( 20-30℃ ) 条件下放置一段时间，必要时可放 37℃水浴中温浴 10 min，以溶解沉淀。

## 二、实验前准备

- 65℃水浴锅、离心机
- 无水乙醇、异丙醇、Rnase A ( 另购：货号 F801-S )
- 液氮 及样品碾磨设备 ( 组织碾磨仪、研钵等设备 )
- 使用前，请按下表准确加入 98-100%的乙醇。

	100T	200T
洗液 1 ( wash1 )	36ml	72ml
乙醇	24ml	48ml

	100T	200T
洗液 2 ( wash2 )	18ml	36ml
乙醇	42ml	84ml

### 三、操作步骤 A (离心法)

使用前请先在洗液1 (wash1) 和洗液2 (wash2) 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 用液氮或其它工具将植物样品研磨成粉末。转移 50mg 粉末至 1.5mL 离心管。
2. 立即加入 65°C 预热的裂解液 (GP1) 700 $\mu$ l 并剧烈涡旋打散样品 (实验前在预热的 GP1 中加入巯基乙醇, 并使其终浓度为 1%); 若后续实验需要去除 RNA 的, 请加入 20 $\mu$ l Rnase A(10mg/ml)。  
(若样品量不足 50mg, 可以直接加入裂解液 (GP1) 600 $\mu$ l 并剧烈涡旋混匀, 本试剂盒不含 Rnase A, 可购买货号: F801-S)
3. 65°C 水浴 30min 后 (每隔 10min 上下混匀 1 次), 加入 700 $\mu$ l 氯仿, 充分混匀, 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 5 min;
4. 收集上清 (通常 350~400  $\mu$ l) 转移至干净的离心管 (未提供)。加入等体积的结合液 (GP2), 用移液器吹吸混合均匀。  
(若提取富含多酚或淀粉的植物组织, 可在第 3 步前, 用酚:氯仿 / 1:1 进行等体积抽提。)
5. 将制备的混合物转移至吸附柱 C1 中, 将吸附柱 C1 12000 $\times$ g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。弃掉流穿液, 并将吸附柱 C1 重新装入收集管中。
6. 向吸附柱 C1 中加入 600  $\mu$ l 洗液 1 (wash1) (确保其中已加入乙醇)。12000 $\times$ g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。弃掉流穿液; 将吸附柱 C1 置于收集管中。
7. 向吸附柱 C1 中加入 600  $\mu$ l 无水乙醇。12000 $\times$ g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。弃掉流穿液; 将吸附柱 C1 置于收集管中。
8. 向吸附柱 C1 中加入 600  $\mu$ l 洗液 2 (wash2) (确保其中已加入乙醇)。12000 $\times$ g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。弃掉流穿液; 将吸附柱 C1 置于收集管中。
9. 之后将吸附柱 C1 以最大速度  $\geq$ 20000 $\times$ g ( $\geq$ 14000 rpm) 重新离心 1 分钟。弃掉含有流穿液的收集管, 将吸附柱 C1 转移到 1.5 mL RNase-free 的收集管中。
10. 向吸附柱 C1 的膜中心加入 50  $\mu$ l 不含核酸酶的水或 Elution buffer 以洗脱 DNA, 12000 $\times$ g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。(注: 若预期 DNA 产量超过 30  $\mu$ g, 请重复一次洗脱步骤。)
11. 弃掉吸附柱 C1。将提取的 DNA 立即用于下游实验或贮存于 -20°C。

**注意:** 洗脱缓冲液体积不应少于 50  $\mu$ l, 体积过小影响回收效率。而且应当将洗脱液放置于 65°C 的水浴锅中加热后使用, 会提高洗脱效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用 ddH<sub>2</sub>O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内, pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率; 且 DNA 产物应保存在 -20°C, 以防 DNA 降解。为增加基因组 DNA 的得率, 可将离心得到的溶液再加入离心柱中, 室温放置 2 min, 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2 min。

## 五、操作步骤 B ( 负压法 )

步骤 1-4 同离心法。

5. 将离心柱连到负压装置（如真空抽滤盒）上，将第4步获得的溶液转移到离心柱中，开启并调节负压至800mba，缓慢吸走液体。
6. 向离心柱依次加入600 $\mu$ l洗液1(Wash 1)、600 $\mu$ l 无水乙醇、600 $\mu$ l洗液2(Wash 2)，使用负压装置使得液体通过离心柱。
7. 干抽2min，使得离心柱上的乙醇挥发完全，然后关掉负压装置；
8. 将离心柱放置到新的1.5 mL收集管上，向离心柱中央加入50~100 $\mu$ l的Elution Buffer ，盖好盖子，室温放置3 min。
9. 12000 rpm离心2 min，将所得的核酸放置-20 $^{\circ}$ C保存或立即使用。