

Plant DNA Extraction Mini Kit C

植物 DNA 小量提取试剂盒 C

本产品适合于从 10~200mg 植物或真菌样品中提取基因组 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，适合于从各种真菌或植物样品中快速提取高纯度的基因组 DNA,无需进行 RNA 酶消化即可得到高纯度的 DNA,高效去除 RNA 残留。得到的 DNA 可直接用于 PCR, 荧光定量等实验。

产品组份

产品编号	DNP343-01 (10 T)	DNP343-02 (50 T)	DNP343-03 (250 T)
DNA Extraction Mini Columns II	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer FLB	10 ml	35 ml	160 ml
Buffer BP	10 ml	35 ml	160 ml
Buffer W1R	10 ml	30 ml	140 ml
Buffer W2B	5 ml	15 ml	2×30 ml
Buffer EB	2 ml	10 ml	50 ml

保存条件

本产品可在室温(15~25℃)保存 12 个月,长期保存时需置于 2-8℃。低温下, Buffer FLB 及 Buffer W1R 可能会有沉淀形成,需 37℃ 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- Buffer W2B 使用前,须按瓶子标签所示,加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤(常规方案)

1. 液氮研磨: 用液氮将植物或真菌样品研磨成细小粉末。称取 30~200mg 粉末至 2.0ml 离心管中。
若无液氮研磨, 可用玻璃匀浆器等工具进行机械破碎; 样品初次提取推荐样品量为 30~50mg, 根据结果再调整用量。
2. 加入 600 μ l Buffer FLB 至样品中, 高速涡旋充分打散样品, 65 $^{\circ}$ C 振荡温浴 15-30 分钟。
在该步骤加入 20 μ l 2-巯基乙醇有利于提高产量。
3. 恢复至室温, 加入 600 μ l 氯仿至裂解液中, 剧烈振荡充分混匀。
该步骤中混匀程度与提取 DNA 纯度有关, 须尽可能充分振荡至溶液均一。
4. 14,000 x g 离心 5 分钟, 转移 500 μ l 上清至新的离心管中。
若需彻底去除 RNA, 加入 5 μ l RNase Solution, 颠倒混匀, 室温放置 10 分钟。
5. 加入 500 μ l Buffer BP 至上清中, 涡旋混匀。
6. 把 DNA Extraction Mini Columns II 装在 2ml 收集管中。把第 5 步的混合液转移至过滤柱中。13,000 x g 离心 20 秒。
7. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。转移剩余混合液至柱子。13,000 x g 离心 30 秒。
8. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer W1R 至柱子上。10,000 x g 离心 10 秒。
9. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer W2B 至柱子中, 10,000 x g 离心 10 秒。
10. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer W2B 至柱子中, 10,000 x g 离心 10 秒。
11. 倒弃滤液, 把柱子装回收集管。13,000 x g 离心 2 分钟。
对于敏感应用, 可打开柱子盖子室温晾干 10 分钟彻底去除乙醇。
12. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 30~100 μ l Buffer EB 至柱子膜中央。室温静置 3 分钟。13,000 x g 离心 1 分钟。
柱子最小的洗脱体积是 30 μ l, 若 DNA 产量超过 10 μ g, 推荐进行第二次洗脱。
13. 弃去柱子, 把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

实验步骤（寄生真菌等）

1. 离心收集真菌沉淀，吸弃所有上清液。
2. 加入 600 μl Buffer FLB、200mg 玻璃粉（0.6~0.8mm）至样品中，高速涡旋 5 分钟充分打散样品，65 $^{\circ}\text{C}$ 振荡温浴 15-30 分钟。
在该步骤加入 20 μl 2-巯基乙醇有利于提高产量。
3. 恢复至室温，加入 600 μl 氯仿至裂解液中，剧烈振荡充分混匀。
该步骤中混匀程度与提取 DNA 纯度有关，须尽可能充分振荡至溶液均一。
4. 14,000 \times g 离心 5 分钟，转移 500 μl 上清至新的离心管中。
若需彻底去除 RNA，加入 5 μl RNase Solution，颠倒混匀，室温放置 10 分钟。
5. 加入 500 μl Buffer BP 及 500 μl 无水乙醇至上清中，涡旋混匀。
6. 把 DNA Extraction Mini Columns II 装在 2ml 收集管中。把第 5 步的混合液转移至过滤柱中。13,000 \times g 离心 20 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。转移剩余混合液至柱子。13,000 \times g 离心 30 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μl Buffer W1R 至柱子上。10,000 \times g 离心 10 秒。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μl Buffer W2B 至柱子中，10,000 \times g 离心 10 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μl Buffer W2B 至柱子中，10,000 \times g 离心 10 秒。
11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。13,000 \times g 离心 2 分钟。
对于敏感应用，可打开柱子盖子室温晾干 10 分钟彻底去除乙醇。
12. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 30~100 μl Buffer EB 至柱子膜中央。室温静置 3 分钟。13,000 \times g 离心 1 分钟。
柱子最小的洗脱体积是 30 μl ，若 DNA 产量超过 10 μg ，推荐进行第二次洗脱。
13. 弃去柱子，把 DNA 保存于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 。

常见问题

1. DNA 产量低

- 基因 DNA 洗脱困难，延长洗脱时间并增加洗脱次数提高洗脱效率。
- 对于寄生真菌等未经液氮研磨等机械破碎方式的样品，玻璃珠破碎不可省略。
- 裂解步骤加入 2-巯基乙醇有利于提高产量
- 样品用量过多，减少样品用量。

2. 下游结果不理想

- **乙醇残留**：对于敏感应用，必须晾干 10 分钟后进行洗脱。
- **样品量过多**：超量样品导致纯度下降，减少样品用量。

3. 柱子堵塞

- **转移上清液时太多沉淀**：若沉淀过多，可将上清离心再次转移。
- **裂解液非常粘稠**：处理多糖丰富的样品时，可适当减少样品用量至 1/2 到 1/3 或增加裂解液用量。
- **加入氯仿后，混匀不够**：制备上清时，加入氯仿时一定要剧烈振荡混匀。充分混匀时，溶液变成均一的乳白状。