

Version: AA 4.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Polysaccharide polyphenols Plant DNA Kit

多糖多酚植物基因组DNA快速提取试剂盒 (离心柱型)

目录号: AA0102

01/产品组分

序号	组分	50 次 AA0102-A	200 次 AA0102-B
1	裂解液 PL	30 mL	120 mL
2	结合液 PQ	15 mL	30 mL×2
		第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 30 mL	60 mL×2
3	抑制物去除液 IR	25 mL	100 mL
4	漂洗液 WB	15 mL	25 mL×2
		第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 60 mL	100 mL×2
5	洗脱缓冲液 EB	15 mL	20 mL
6	吸附柱 AC	50 个	200 个
7	收集管 (2 mL)	50 个	200 个

02/保存条件

所有组分均室温 (15-25℃) 保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取植物基因组 DNA, 可在 1 h 内完成单个或多个样本的提取工作。基于改良型植物经典 CTAB 抽提液 (添加多种针对植物特点的多糖、多酚去除成份) 迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶, 氯仿抽提后通过离心清除多糖、多酚和蛋白质 (根据需要, 上清中还可加入异丙醇离心沉淀基因组 DNA, 进一步去除其它各种杂质), 然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, 再通过一系列快速的漂洗、离心的步骤, 进一步将蛋白、多糖、多酚以及细胞代谢物等杂质去除, 最后低盐

的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。不同来源的植物组织材料中提取 DNA 的量会有差异。

不同样本提取 DNA 的大致产量与纯度如下：

样本类型 (新鲜幼嫩叶片)	样本量	DNA 平均产量	纯度 (OD260/OD280)
小麦	100 mg	25-30 µg	1.7-1.9
松树	100 mg	25-30 µg	1.7-1.9
马铃薯	100 mg	4-6 µg	1.7-1.9
番茄	100 mg	10-15 µg	1.7-1.9
草莓	100 mg	10-15 µg	1.7-1.9
烟草	100 mg	20-25 µg	1.7-1.9
水稻	100 mg	10-25 µg	1.7-1.9
大豆	100 mg	20-30 µg	1.7-1.9
玉米	100 mg	20-30 µg	1.7-1.9
棉花	100 mg	10-25 µg	1.7-1.9

04/自备材料

氯仿或者氯仿/异戊醇（体积比 24:1 混合）、无水乙醇、β-巯基乙醇、RNase A

05/注意事项

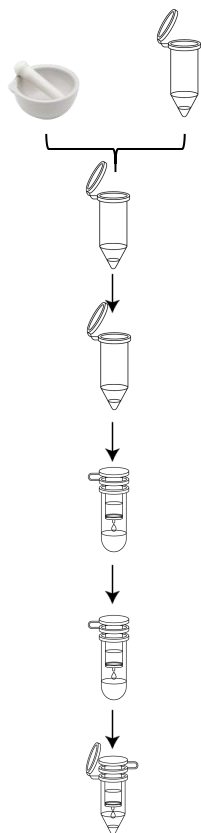
请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- ◇ 裂解液 PL、或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 55℃水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。结合液 PQ 盐酸胍浓度高，加入乙醇后可能出现一些沉淀不影响使用，直接取上清用。
- ◇ 结合液 PQ 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化等影响，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在漂洗液 WB 和结合液 PQ 中加入指定量的无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- ◇ 取所需适量裂解液 PL 放置在 65℃预热，使用前加入β-巯基乙醇到终浓度 2%，本试剂建议现配现用。

06/使用方案

1. 取新鲜植物组织约100 mg或干重组织30 mg左右，加入液氮充分碾磨成细粉，转移细粉至新的1.5mL离心管。
2. 向离心管中加600 μ L 65°C预热的裂解液PL，剧烈涡旋振荡混匀，用大口径枪头轻柔吹打帮助裂解。
▲如果组织裂解困难，可根据需要加一个轻柔匀浆10 s的步骤帮助裂解。
3. 65°C水浴20-30 min，在水浴过程中颠倒混匀样品2-3次。
▲可选步骤：如果预计样品RNA丰富易残留，可在水浴前加入5-6 μ L RNase A（20 mg/mL）。如果组织干燥或者产量低，可以适当延长水浴时间。
▲注：如果提取的DNA残留RNA较多导致电泳时候条带拖尾，条带扭曲，背景很高等不正常电泳情况，可以加1% RNase A（10 mg/mL）37 °C或者室温放置半小时即可消化RNA，消化完后不需要特殊处理便可用于PCR或者酶切。
4. 加入700 μ L氯仿或者氯仿/异戊醇（体积比24:1混合），颠倒充分混匀几分钟（或者涡旋混匀），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心5 min。
▲可选步骤：若提取的植物组织富含多糖多酚，可以在第4步前用等体积酚/氯仿（1: 1）抽提一遍。
5. 小心吸取上清到新的1.5 mL离心管，注意不要吸到界面物质。
▲可选步骤：如上清比较浑浊，则可重复步骤4一遍，直到得到透亮上清。
6. 较精确估算上清量，加入1.5倍体积结合液PQ（请先检查是否已加入无水乙醇！）后立刻涡旋，充分混匀。此时可能出现沉淀，但不影响实验结果。
7. 将上一步所得混合物（包括可能出现的沉淀）加入一个吸附柱AC中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心30 s，弃废液。
8. 加入500 μ L抑制物去除液IR，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心30 s，弃废液。
9. 加入600 μ L漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心30 s，弃废液，重复此步骤一遍。
将吸附柱AC放回空收集管中，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心2 min，尽量除去漂洗液。
10. 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加100 μ L洗脱缓冲液EB（事先在65-70°C水浴中预热），室温放置3-5 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心1 min。
▲洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果预计和需要产量高，可增大洗脱体积，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于50 μ L，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。
11. DNA可以存放在2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在-20°C。

07/流程简图



裂解: 新鲜组织100 mg或干重组织30 mg

600 μ L 65 °C预热的裂解液PL (已加入 β -巯基乙醇)

65°C水浴20-30 min (水浴前加5 μ L RNase A, 选做)

分层: 700 μ L氯仿或者氯仿/异戊醇(体积比24:1混合)

13,400 $\times$ g离心5 min取上清

结合: 1.5倍体积结合液PQ (请先检查是否已加入无水乙醇!)

加入上一步混合物, 13,400 $\times$ g离心30 s可多次富集

去除抑制物: 500 μ L抑制物去除液IR

13,400 $\times$ g离心30 s, 弃上清

漂洗: 600 μ L漂洗液WB (请先检查是否已加入无水乙醇!)

13,400 $\times$ g离心30 s; 2次

去残留乙醇: 13,400 $\times$ g空甩2 min

洗脱: 100 μ L洗脱液EB (65-70°C预热)

室温静置3-5 min, 13,400 $\times$ g离心1 min

可重复洗脱一次, 长期储存-20°C

08/相关产品

AA1904-A RNase A (10 mg/mL)

AA1904-B RNase A (100 mg/mL)

AA0101 SPARKclassic 植物基因组DNA提取试剂盒

AA0103 SPARKeasy 植物基因组DNA快速提取试剂盒 (小量)

AC0305 SPARKeasy 新型植物RNA快速提取试剂盒

AC0101 SparkZol Reagent

AF0802 2 $\times$ SparkHiFi Max Master Mix (with dye)

AF0803 2 $\times$ SparkHiFi Max Master Mix (without dye)

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

