



CATB 法植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

Cat. No: DN14

南京钟鼎生物技术有限公司

南京市玄武区孝陵卫双拜巷 78 号紫金山创业园 A 座

联系电话: 400-025-1124 传 真: 025-84448440

电子邮件: order@zoonbio.com 网 址: www.zoonbio.com

适用范围：

适用于植物基因组 DNA 的快速提取

产品规格

产品货号	规格
DN14-50T	50 次
DN14-100T	100 次
DN14-200T	200 次

试剂盒组成、储存、稳定性：

本试剂盒可在室温储存 12 个月

试剂盒组成	保存	50 次	100 次	200 次
裂解液 PL	室温	40 ml	80 ml	75 ml×2
抑制物去除液 IR	室温	25 ml	50 ml	100 ml
漂洗液 WB	室温	15 ml	25 ml	25 ml×2
		第一次使用前按说明加指定量乙醇		
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml	15 ml	40 ml
结合液 PQ	室温	15 ml	30 ml	30 ml×2
		第一次使用前按说明加指定量乙醇		
吸附柱 AC	室温	50 个	100 个	200 个
收集管 (2 ml)	室温	50 个	100 个	200 个

产品简介：

改进的植物 DNA 抽提液内（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，进一步将多糖、多酚和细胞代谢物、蛋白等杂质去除，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。

产品特点

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口世界著名公司特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 不需要使用苯酚等有毒试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。

3. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
4. 数种去多糖、多酚成份和多次柱漂洗确保高纯度， OD_{260}/OD_{280} 典型的比值达 1.7~1.9，长度可达 30 kb -50kb，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应。

储存事项：

1. 裂解液 PL、结合液 PQ 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℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，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。

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 13,000rpm 的传统台式离心机，如 Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到 65℃ 备用。
3. 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。
4. 不同来源的植物组织材料中提取 DNA 的量会有差异，一般 100mg 新鲜组织典型产量可达 3-25 μ g。
5. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20℃。DNA 如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0），但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。
6. 本试剂盒是按照标准提取过程配置各溶液体积，如果样品 DNA 含量低或者产量低，需要扩大提取量，还需要另外购买溶液。

操作步骤：（请先阅读注意事项再开始实验）

提示：

第一次使用前请先在漂洗液 WB 瓶和结合液 PQ 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时标记已加入乙醇，以免多次加入。

实验需自备试剂：氯仿/异戊醇（体积比 24:1 混合）、无水乙醇和 β -巯基乙醇。

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%。

1. 取适量植物组织（新鲜组织 100 mg 或干重组织 30 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 600 μ l 65 $^{\circ}$ C 预热的裂解液 PL (确认已加入 β -巯基乙醇至 2%)，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 秒的步骤帮助裂解。

3. 65 $^{\circ}$ C 水浴 20-60 分钟，在水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。

可选:如果组织干燥或者产量低，可以适当延长水浴时间。如果 RNA 残留多，可在水浴前加入 6 μ l RNA 酶 (20mg/ml)。

4. 加入 700 μ l 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)，13,000rpm 离心 5 分钟。

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. 小心吸取上清到一个新的 1.5ml 离心管，注意不要吸到界面物质。

如上清比较浑浊，则需要重复步骤 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) 13,000rpm 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液 (先加 700 μ l 离心，弃废液，再加入剩余的溶液，再次离心)。

8. 加入 500 μ l 抑制物去除液 IR，12,000rpm 离心 30 秒，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)，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

10. 加入 600 μ l 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 30 秒，弃掉废液。

11. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，13,000rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。

12. 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 (洗脱缓冲液事先在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴中预热)，室温放置 3-5 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置 2 分钟，12,000rpm 离心 1 分钟。

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。

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

附录（低 DNA 含量或者产量低样品操作步骤）：

1. 取适量植物组织（新鲜组织 400 mg 或干重组织 200 mg）在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
2. 转移细粉到一个 15ml 离心管，不要解冻，加入 9ml 65℃预热的裂解液 PL (确认已经加入 β-巯基乙醇至 2%)，剧烈涡旋振荡混匀，用大口径枪头吹打帮助裂解。
如果组织裂解困难，可以根据需要加一个轻柔匀浆 10 秒的步骤帮助裂解。
3. 室温放置 60 分钟，中间不时颠倒离心管以混合样品数次。
如果组织干燥或者产量低，可以放置在 65℃水浴。
4. 加 4.5ml 氯仿/异戊醇（体积比 24: 1 混合），涡旋充分混匀，3,000g 离心 10 分钟。
5. 小心吸取上清到一个新的 15ml 离心管，注意不要吸到界面物质。重复一遍步骤 4。
6. 小心吸取上清到一个新的 15ml 离心管，估算上清量，加入 0.7 倍体积的异丙醇，涡旋混匀来沉淀 DNA。
7. 立刻 3,000g 离心 20 分钟沉淀 DNA，弃上清，颠倒离心管口放在纸巾上控干残留液体，并小心用移液枪吸干沉淀周围残留液体（不要过于干燥 DNA 沉淀）。
8. 加入 300μl-400μl 预热到 65℃的灭菌水，重新溶解 DNA，可能需要在 65℃短暂温育帮助溶解，期间不断轻弹管底帮助溶解。
9. 加入 1.5 倍体积结合液 PQ 450μl-600μl，（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。
10. 后续步骤和上面标准操作步骤 7 开始后完全一样。