

Plant DNA Extraction Mini Kit II

植物 DNA 小量提取试剂盒 II

本产品适合于从 10~100mg 植物样品中提取基因组 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。实验过程无需使用有毒的酚氯仿抽提，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	DNP344-01 (10 Preps)	DNP344-02 (50 Preps)	DNP344-03 (250 Preps)
DNA Extraction Mini Columns II	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer TL	8 ml	35 ml	160 ml
Buffer IRP	3 ml	12 ml	55 ml
Buffer PBB	4 ml	15 ml	80 ml
Buffer W1A	4.4 ml	13 ml	66 ml
Buffer W2A	5 ml	15 ml	2×30 ml
Buffer EB	2 ml	10 ml	50 ml
RNase Solution	60 ul	300 ul	1.4 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 TL 及 Buffer W1A 可能会有沉淀形成，需 37℃ 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- Buffer PBB/W1A/W2A 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

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 30~100mg 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 0.6ml Buffer TL 和 5 μ l RNase Solution 至样品中，涡旋混匀 30 秒打散样品，65℃ 温育 15 分钟。
针对多酚类植物样品，可加入 60 μ l 20% PVP-40 溶液至裂解液中。
3. 恢复至室温，加入 200 μ l Buffer IRP 至样品中，充分涡旋混匀 20 秒。冰上或 4℃ 放置 5 分钟。
该步骤加入 Buffer IRP 后，会析出大量沉淀，需要充分涡旋，否则杂质去除不干净影响后续实验。对于简易样品，可省略低温放置步骤。
4. 14,000 x g 离心 5 分钟，转移 500 μ l 上清至新的离心管中，加入 1.5 倍体积的 Buffer PBB，充分涡旋混匀。
5. 把 DNA Extraction Mini Columns II 装在 2ml 收集管中。把第 4 步的混合液转移至过滤柱中。13,000 x g 离心 20 秒。
6. 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。
7. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 500 μ l Buffer W1A（确认已经加入乙醇）至柱子上。10,000 x g 离心 10 秒。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管。加入 500 μ l Buffer W2A（确认已经加入乙醇）至柱子中，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 W2A（确认已经加入乙醇）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。13,000 \times g 离心 2 分钟。

该步骤去除 DNA 柱中残留的乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应。当洗脱体积低于 50 μ l 时，该步骤结束后应打开 DNA 柱盖子于室温空气干燥 10 分钟后再进行洗脱，避免乙醇残留对酶促反应的影响。

11. 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 \times g 离心 1 分钟。

柱子最小的洗脱体积是 30 μ l，若对产量要求较高，推荐进行第二次洗脱，将洗脱液重新加至柱子膜中央，室温静置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。

12. 弃去柱子，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. DNA 产量低

- 基因组 DNA 洗脱困难，延长洗脱时间并增加洗脱次数提高洗脱效率。
- 多酚样品裂解步骤加入 PVP-40 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 IRP 后，混匀不够**：制备上清时，加入 Buffer IRP 时一定要剧烈振荡混匀。充分混匀时，溶液变成均一状态。