

一、 试剂盒组成、储存、稳定性

	试剂盒组成	AU3111	AU3112
		50 次	200 次
1	Buffer P1	30mL	120ml
2	Buffer P2	7mL	28ml
3	蛋白酶 K	20mg	20mg x 4
4	RNase A	200uL	800uL
5	磁珠	1mL	4ml
6	磁珠结合液 CB	20mL	80ml
7	抑制物去除剂 IR 1	45mL	180ml
8	抑制物去除剂 IR 2	45mL	180ml
9	漂洗液 WB	45mL	180ml
10	洗脱液 TE	6mL	24ml

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果.

二、注意事项（实验前必须首先阅读这部分!）

1. Buffer P1、Buffer P2 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 65℃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。
3. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13, 000 rpm的传统台式离心机，如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
4. 开始实验前将需要水浴的物品先预热到 65℃备用。
5. 不同来源的植物组织材料中提取的DNA 的量会有差异，一般100mg新鲜组织典型产量可达3-25 μg。

6.操作步骤是配合标准 96 深孔板，如是 32 孔或 24 孔板，请加入 1-6 或 7-12 列的试剂。

7. 蛋白酶 K 使用前可先短暂离心，加入 1ml 去离子水充分溶解后使用。

三、操作步骤

* 将 Buffer P1 放置在 65℃ 预热。

1. 加热 Buffer P1 到 65℃。
2. 称取适量植物组织于研钵中加入液氮充分研磨成细粉或用组织破碎仪破碎。
3. 转移细粉（植物新鲜组织 10-100 mg 或干重组织 5-30 mg）到一个 1.5 mL 离心管，加入 550 uL 65℃ 预热 Buffer P1、20uL 蛋白酶 K 和 4 uL RNase A 剧烈涡旋震荡混匀，65℃ 水浴 20-30 分钟，期间要剧烈颠倒混匀。
4. 在此期间，可以预先把除了样品以外的东西加到标准 96 深孔板中，加 400uL 磁珠结合液 CB、300uL 无水乙醇到深孔板的第 1、2、7、8 列，加 900uL 抑制物去除剂 IR1 至第 3、9 列，加 900uL 抑制物去除剂 IR2 至第 4、10 列，加 900uL 漂洗液 WB 至第 5、11 列，加 120uL 洗脱液 TE 至第 6、12 列，加入 20uL 磁珠（加之前需把磁珠混匀）至第 1、7 列。
5. 待温度冷却后，加入 130 uL Buffer P2，充分混匀，12000 rpm 离心 3 min，取 200 uL 上清液加入到深孔板的第 1、2 列或第 7、8 列。
6. 配合 BioTeke 32 位核酸提取仪运行以下程序（裂解温度设置为 80℃，

洗脱温度设置为 65℃），若用其他核酸提取仪，请相应调整程序。

步骤	孔位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	磁吸时间 (s)	混合速度	容积	运行状态
1	1	吸附核酸	0	10	30	慢	650	否
2	2	吸附核酸	0	10	60	慢	650	否
3	3	漂洗	0	5	30	中	400	否
4	4	漂洗	0	4	30	中	400	否
5	5	漂洗	0	3	30	中	400	否
6	6	洗脱	2	10	60	中	200	否
7	2	弃磁珠	0	0	0	慢	200	否

7. 转移第 6 列（或第 12 列）DNA 至新的干净的离心管中，DNA 可以存放在 2-8℃，如果要长时间存放，可以放置在 -80℃。