



## 核酸提取试剂使用说明书

### 【产品名称】

产品通用名称：核酸提取试剂

产品商用名称：**新型快速植物基因组DNA提取试剂盒（离心柱型）**

### 【包装规格】

DP3111（50次）/DP3112（100次）/DP3113（200次）

### 【预期用途】

用于多种植物组织中的基因组 DNA 的提取，富集，纯化等步骤。其处理后的产物可用于酶切、PCR、文库构建、Southern 等实验。

### 【检验原理】

改进的 CTAB 植物 DNA 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，通过离心清除多糖、多酚和蛋白质，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 - 离心步骤，进一步将残留的多糖，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基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

### 【主要组成成分】

试剂盒由平衡液，Buffer P1，Buffer P2，Buffer P3，RNase A，漂洗液 WB，洗脱缓冲液 EB，吸附柱 AC，分离柱 A，收集管（2mL），使用说明书和合格证组成。主要组分及储存条件见表 1。

表 1 试剂盒组成、储存

试剂盒组成	DP3111	DP3112	DP3113	保存
平衡液	25 mL	50 mL	100 mL	常温
Buffer P1	30 mL	60 mL	120 mL	常温 1-3 个月 -20°C 长期

Buffer P2	7 mL	14 mL	28 mL	4°C一个月 -20°C长期
Buffer P3	50 mL	100 mL	200 mL	4°C一个月 -20°C长期
RNase A	200 $\mu$ L	400 $\mu$ L	800 $\mu$ L	-20°C
漂洗液 WB	15 mL	25 mL	25 mL x 2	室温
	<b>第一次使用前按说明加指定量乙醇</b>			
洗脱缓冲液 EB	15 mL	20 mL	40 mL	室温
吸附柱 AC	50 个	100 个	200 个	室温
分离柱 A	50 个	100 个	200 个	室温
收集管 (2mL)	50 个	100 个	200 个	室温

**注：第一次使用前请先在漂洗液 WB 瓶中加入指定量乙醇，加入后请及时打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！**

### 【实验所需试剂但未提供的物品】

- \* 无水乙醇
- \*  $\beta$ -巯基乙醇 (可选)

### 【储存条件及有效期】

1、Buffer P1 可在常温保存 1-3 个月，长期保存-20°C条件下保存；Buffer P2，Buffer P3 可在 4°C保存 1 个月，长期保存-20°C条件下保存；RNase A 在-20°C条件下保存；其他试剂可常温保存。

2、本试剂盒有效期一年，请在有效期内使用。

3、为了避免试剂长时间暴露于空气中发生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

### 【适用仪器】

本产品可适用于匹配 1.5/2.0 mL 离心管的高速离心机，如百泰克 CK1260 及类似离心机。

### 【样本要求】

新鲜或保存得当的植物样品。样本采集后尽快实验，可在 2~8°C暂时保存；若需长期保存，应置于-20°C或-80°C环境中。

### 【使用方法】

- \* **第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇！**

**\* 将 Buffer P1 和洗脱缓冲液 EB 放置在 65°C 预热, Buffer P1 使用前可加入  $\beta$ -巯基乙醇到终浓度 0.2% (针对容易褐化样本, 一般样本可不加)。**

1. (可选步骤) 柱平衡步骤: 向吸附柱 AC 中 (吸附柱放入收集管中) 加入 500  $\mu$ L 的平衡液, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的下滤液, 将吸附柱重新放回收集管中。(请使用当天处理过的柱子。柱平衡后有助于核酸得量的提升。)

2. 取适量植物组织在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。

3. 转移细粉 (植物新鲜组织 100 mg 或干重组织 30 mg) 到一个 1.5mL 离心管, 不要解冻, 加入 550  $\mu$ L 65°C 预热 Buffer P1 和 4  $\mu$ L RNase A, 剧烈涡旋振荡混匀 1 分钟, 室温放置 10 分钟。

4. 加入 130  $\mu$ L 的 Buffer P2, 剧烈涡旋振荡混匀 1 分钟, 12000rpm 离心 3 分钟。

5. 小心吸取上清到分离柱 A 中, 注意不要吸到界面物质, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 收集下滤液。

6. 转移下滤液到一个新的 2 mL 离心管中, 加入 1.5 倍体积的 Buffer P3 立刻轻柔涡旋, 充分混匀。

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 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液 (吸附柱 AC 单次上样量最多 700  $\mu$ L, 若样本量大于 700  $\mu$ L 需分多次过柱)。

8. 加入 700  $\mu$ L 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm 离心 1 分钟, 弃掉废液。

9. 加入 500  $\mu$ L 漂洗液 WB, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 弃掉废液。

10. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 13,000 rpm 离心 3-5 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。

11. 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 50  $\mu$ L 洗脱缓冲液 EB (洗脱缓冲液事先在 65°C 水浴中预热), 室温放置 3-5 分钟, 12,000 rpm 离心 1 分钟收集 DNA。洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 可以 50  $\mu$ L 分两次洗脱, 提高洗脱效率。

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

### 【产品性能指标】

1. pH 值:

**在 25°C  $\pm$  2°C 条件下测定, 以下组分的 pH 值需满足下表要求:**

组分名称	pH 值
漂洗液 WB	7.5 $\pm$ 0.2
洗脱缓冲液 EB	8.5 $\pm$ 0.2

## 2. 核酸提取效果：

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 3-30 $\mu$ g。

植物材料	提取量	DNA 产量
拟南芥	100 mg	3~4 ug
小麦叶片	100 mg	25~30 ug
烟草	100 mg	20~25 ug
玉米叶片	100 mg	20~30 ug
水稻叶片	100 mg	10~25 ug

### 【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12,000 rpm的台式离心机，如百泰克CK1260 或者类似离心机。

2. 开始实验前将需要水浴的物品先预热到65 $^{\circ}$ C备用。

3. Buffer P3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. 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 $^{\circ}$ C。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。

5. Buffer P1、Buffer P3低温时可能出现析出和沉淀，可以在37 $^{\circ}$ C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。

### 【疑难解答】

#### **DNA产量低**

处理材料过量或者裂解不完全

#### **RNA残留**

植物RNA含量太丰富

#### **未提取到DNA**

漂洗液WB中忘记加无水乙醇

#### **洗脱下来的DNA溶液带颜色或者膜上有明显的色素残留**

漂洗次数不够

起始材料太多过量

**洗脱下来的DNA产量低**

离心柱残留有较多乙醇或者底部不慎沾有乙醇  
使用了水或者其它非最佳液体代替洗脱缓冲液

**A<sub>260</sub>吸光值异常偏高**

一些硅基质膜成分一起洗脱下来，干扰了吸光值

**DNA下游酶切不能切开或者酶切不完全**

一些硅基质膜成分一起洗脱下来，抑制了酶切反应

离心柱残留有较多乙醇或者底部不慎沾有乙醇抑制了酶切反应

**【生产企业】**

企业名称：无锡百泰克生物技术有限公司

注册地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区

生产地址：无锡惠山经济开发区惠山大道 1719-5 号四层 A 区

邮政编码：214100

电话/传真：400-678-8982

网址：[www.bioteke.cn](http://www.bioteke.cn)

**【说明书核准及修改日期】**

说明书修改日期 2019 年 03 月 13 日