



CTAB 植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

Plant Rapid Genomic DNA Kit

产品信息：

试剂盒组成	保存	DL114-01
		100 次
裂解液 PL	室温	40ml×2
结合液 PQ	室温	15ml×2
		第一次使用前按说明加指定量乙醇
抑制物去除液 IR	室温	50ml
漂洗液 WB	室温	25ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml
吸附柱 AC	室温	100 个
收集管 (2ml)	室温	100 个

保存条件： 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

产品介绍：

改进的经典 CTAB 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. 提取纯度高，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 典型的比值达 1.7~1.9。
2. 简单快速，单个样品操作一般可在 1 小时内。

注意事项：

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 37℃ 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。

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. **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。
5. 本试剂盒是按照标准提取过程配置各种溶液，如果DNA样品含量低或者产量低，需要扩大提取量，还需要另外购买溶液。

自备试剂: 氯仿/异戊醇(体积比 24:1 混合)、无水乙醇、 β -巯基乙醇、RNase A(10mg/ml)。

操作步骤

提示:

- ⇒ 第一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 -巯基乙醇到终浓度为 2%。
1. 取适量植物组织（新鲜组织 100mg 或干重组织 30mg）在研钵中加入液氮充分研磨成细粉。
 2. 转移细粉到一个 1.5ml 离心管，不要解冻，加入 600 μ l 已经 65℃ 预热的裂解液 PL (确认已加入 β -巯基乙醇为 2%)，剧烈涡旋振荡混匀，用大口径枪头轻柔吹打帮助裂解。**(注意: 为了防止 RNA 酶的干扰, 可加入 6 μ l 的 10mg/ml 的 RNA 酶, 室温放置 5 min)**
 3. 65℃ 水浴 20-60 min，在水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。
 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），12,000rpm 离心 5 min。

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。

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）12,000rpm 离心 30 sec，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 sec，弃废液。

- 加入 500 μ l 漂洗液 WB (**加入无水乙醇!**), 12,000rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。
- 重复操作步骤 9。
- 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 12,000rpm 离心 2 min, 将吸附柱置于室温放置数分钟, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
- 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 $^{\circ}$ C 水浴中预热), 室温放置 2-5 min, 12,000rpm 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, 12,000rpm 离心 1 min。(注意: DNA 产物应保存在-20 $^{\circ}$ C, 以防 DNA 降解)

附录 (低 DNA 含量或者产量低样品操作步骤) :

- 取适量植物组织 (新鲜组织 400mg 或干重组织 200mg) 在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
- 转移细粉到一个 15ml 离心管, 不要解冻, 加入 9ml 已经 65 $^{\circ}$ C 预热的裂解液 PL (确认已经加入 β -巯基乙醇为 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, 可根据需要加一个轻柔匀浆 10 sec 的步骤帮助裂解。(注意: 为了防止 RNA 酶的干扰, 可加入 90 μ l 的 10mg/ml 的 RNA 酶, 室温放置 5min)**
- 室温放置 1 h, 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 $^{\circ}$ C 水浴。
- 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 min。
- 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。
- 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。
- 立刻 3,000g 离心 20 min 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)。
- 加入 300 μ l—400 μ l 预热到 65 $^{\circ}$ C 的灭菌水, 重新溶解 DNA, 可能需要在 65 $^{\circ}$ C 短暂温育帮助溶解, 期间不断轻弹管底帮助溶解。
- 加入 1.5 倍体积结合液 PQ (450 μ l—600 μ l, **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。
- 后续步骤和上面标准操作步骤 7 开始后完全一样。