

UE 植物基因组 DNA 小量制备试剂盒

本试剂盒用于从常规经济植物和多糖多酚植物样本中提取高质量基因组 DNA。提取的基因组 DNA 适用于酶切、PCR、RT-PCR、NGS 等下游分子生物学实验

一、试剂盒组成、贮存、稳定性

Cat.No.	UE-MN-PP -GDNA-10	UE-MN-PP -GDNA-50	UE-MN-PP -GDNA-250
Kit size	10 preps	50 preps	250 preps
Spin Columns NP	10	50	250
Collection Tubes (2mL)	10	50	250
PK Soln	0.25 mL	1.25 mL	6 mL
PVP 40	0.12 g	0.6 g	3 g
Buffer APL	6 mL	30 mL	150 mL
Buffer P3	2 mL	10 mL	50 mL
Buffer WB	4 mL	20 mL	100 mL
Buffer AW2	3 mL	15 mL	75 mL
Eluent A	2 mL	10 mL	50 mL
RNase A Soln	40 µL	200 µL	1000 µL
Protocol manual	1	1	1

PK Soln: -20°C 长期储存。

PVP 40: 多酚去除试剂

Buffer APL: 细胞裂解液。室温密封贮存。低温下可能会有沉淀析出, 需在 65°C 水浴让沉淀完全溶解并冷却至室温后使用。

Buffer P3: 中和液。室温密封贮存。

Buffer WB: DNA 结合溶液, 为浓缩液, 使用前须按试剂瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。室温密封贮存

Buffer AW2: 去盐液, 为浓缩液, 使用前须按试剂瓶子标签所示, 加入无水乙醇进行稀释。

Eluent A: 洗脱液。室温密封贮存。

RNase A Soln: 100mg/mL, -20°C 长期储存。

二、注意事项

1. 设备需预热: 提前将恒温振荡器(或水浴锅)预热至 65°C。若使用振荡器, 建议转速设为 1,000 rpm; 若用水浴锅, 需在温浴期间将离心管颠倒混匀 2~3 次。

2. 缓冲液稀释: 使用前, 按试剂瓶标签说明向 Buffer WB 和 Buffer AW2 中加入无水乙醇进行稀释。

3. 特殊样本处理:

多糖多酚样本(如草莓叶、葡萄叶):

若提取效果不佳, 可在 Buffer APL 中加入 PVP 40 干粉(终浓度 2% W/V), 颠倒混匀至充分溶解; 对复杂样本, 再加入适量 β-巯基乙醇(终浓度 0.5~2% V/V), 增强抗氧化能力。

常规经济作物(如水稻、玉米、番茄): 无需添加 PVP 40 或 β-巯基乙醇。

三、实验准备

- 自备试剂: 无水乙醇 (AR)、β-巯基乙醇
- Buffer WB, AW2 在使用前需按照试剂瓶标签所示加入无水乙醇进行稀释后使用;

四、操作步骤

【样本前处理】

1. 称取 ≤100 mg 新鲜/冷冻样本(或 ≤20mg 干燥样本), 选择合适的组织匀浆方式进行匀浆(可选用液氮研磨、组织研磨仪等工具), 立即

加入 500 µl Buffer APL 和 25µL PK Soln, 涡旋均匀分散, 65°C 振荡温浴 15 分钟。

注: 液氮研磨后应立即向样本中加入 Buffer APL, 避免样本融化导致 DNA 得量降低。

2. 短暂离心, 加入 4µL RNase A 和 160µL Buffer P3, 高速涡旋 10 秒, 冰上孵育 10 分钟。

3. 14,000xg 离心 5 分钟, 转移上清液至新的 2mL 离心管。

4. 加入 1.5 倍体积 Buffer WB, 高速涡旋 10 秒, 短暂离心。

5. 转移 ≤800µL 混合液(包含絮状沉淀)至已装在 2mL Collection Tube 中的 Spin Column NP 中, 10,000xg 离心 1 分钟。倒弃滤液, 柱子装回收集管中。重复这一步骤直至所有混合液转移至柱中并离心。

6. 加入 500µL Buffer AW2 至柱中。10,000xg 离心 1 分钟。弃去滤液, 柱子装回收集管中。

7. 加入 500µL Buffer AW2 至柱中。10,000xg 离心 1 分钟。弃去滤液, 柱子装回收集管中。

8. 14,000xg 离心空柱 2 分钟, 去除残留乙醇。

9. 将柱子装在新的 1.5mL 离心管中。加入 50~100µL 预热至 65°C Eluent A 至柱子的膜中央。静置 3 分钟, 10,000xg 离心 1 分钟。收集 DNA 溶液, 保存于 -20°C。

五: 常见问题

1. DNA 得量低

样本类型、样本量、储存条件以及存放时长会影响 DNA 得量。

Buffer WB 和 Buffer AW2 未按瓶子标签所示加入正确体积的乙醇。

Buffer APL 未立即加入至样本中导致样本融化或样本已融化。

2. 纯度低

未按说明书标注体积加入清洗液。

未按说明书标注离心转速进行清洗。

3. DNA 碎片化严重

样本存放时间过久。

样本反复冻融。