

Version: AA 4.1 (2024.06.03修订)

# SPARKeasy Polysaccharide polyphenols Plant DNA Kit

## 多糖多酚植物基因组DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA0102

### 01/产品组分

序号	组分	50 次	200 次
		AA0102-A	AA0102-B
1	裂解液 PL	30 mL	120 mL
2	结合液 PQ	45 mL	90 mL × 2
3	抑制物去除液 IR	25 mL	100 mL
4	漂洗液 WB	15 mL	25 mL × 2
		第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 60 mL	100 mL × 2
5	洗脱缓冲液 EB	15 mL	20 mL
6	吸附柱 AC	50 个	200 个
7	收集管 (2 mL)	50 个	200 个

### 02/保存条件

所有组分均室温 (15-25°C) 保存。

### 03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取植物基因组 DNA, 可在 1 h 内完成单个或多个样本的提取工作。基于改良型植物经典 CTAB 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, 氯仿抽提后通过离心清除多糖、多酚和蛋白质 (根据需要, 上清中还可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, 进一步将蛋白、多糖、多酚以及细胞代谢物等杂质去除, 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。不同来源的植物组织材料中提取 DNA 的量会有差异。

不同样本提取 DNA 的大致产量与纯度如下：

样本类型 (新鲜幼嫩叶片)	样本量	DNA 平均产量	纯度 (OD260/OD280)
小麦	100 mg	25-30 µg	1.7-1.9
松树	100 mg	25-30 µg	1.7-1.9
马铃薯	100 mg	4-6 µg	1.7-1.9
番茄	100 mg	10-15 µg	1.7-1.9
草莓	100 mg	10-15 µg	1.7-1.9
烟草	100 mg	20-25 µg	1.7-1.9
水稻	100 mg	10-25 µg	1.7-1.9
大豆	100 mg	20-30 µg	1.7-1.9
玉米	100 mg	20-30 µg	1.7-1.9
棉花	100 mg	10-25 µg	1.7-1.9

## 04/自备材料

氯仿或者氯仿/异戊醇（体积比 24:1 混合）、无水乙醇、β-巯基乙醇、RNase A

## 05/注意事项

### 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- ◇ 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 55℃水浴帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 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。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化等影响，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在漂洗液 WB 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，加样前加入β-巯基乙醇到终浓度 2%，本试剂建议现配现用。

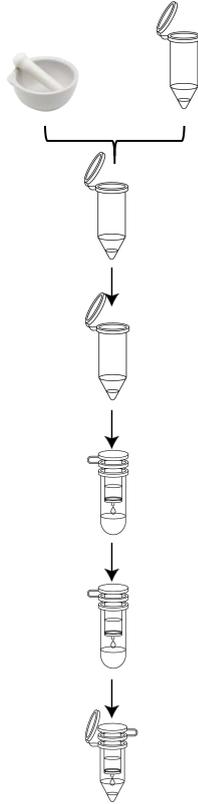
## 06/使用方案

1. 取新鲜植物组织约100 mg或干重组织30 mg左右，加入液氮充分碾磨成细粉，转移细粉至新的1.5mL离心管。
2. 向离心管中加600 µL 65℃预热的裂解液PL，立刻剧烈涡旋振荡混匀。
  - ▲裂解液PL需提前于65℃预热，以保证组织的裂解效果，并于加样前加入β-巯基乙醇到终浓度2%。
3. 65℃水浴20-30 min，在水浴过程中颠倒混匀样品2-3次。

▲可选步骤：如果预计样品RNA丰富易残留，可在水浴前加入5-6 μL RNase A（20 mg/mL）。如果组织干燥或者产量低，可以适当延长水浴时间。

4. 加入700 μL氯仿或者氯仿/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），12,000 rpm（13,400×g）离心5 min。
5. 小心吸取上清到新的1.5 mL离心管，注意不要吸到界面物质。
6. 较精确估算上清量，加入1.5倍体积结合液PQ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），12,000 rpm（13,400×g）离心30 s，弃废液。
8. 加入500 μL抑制物去除液IR，12,000 rpm（13,400×g）离心30 s，弃废液。
9. 加入600 μL漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400×g）离心30 s，弃废液，重复此步骤一遍。  
将吸附柱AC放回空收集管中，12,000 rpm（13,400×g）离心2 min，尽量除去漂洗液。
10. 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 μL洗脱缓冲液EB（事先在65-70°C水浴中预热），室温放置3-5 min，12,000 rpm（13,400×g）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，12,000 rpm（13,400×g）离心1 min。  
▲洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果预计和需要产量高，可增大洗脱体积，如果需要DNA浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于50 μL，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。  
▲注：如果提取的DNA残留RNA较多导致电泳时候条带拖尾，条带扭曲，背景很高等不正常电泳情况，可以加1% RNase A（10 mg/mL）37 °C或者室温放置半小时即可消化RNA，消化完后不需要特殊处理便可用于PCR或者酶切。
11. DNA可以存放在2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在-20°C。

## 07/流程简图



裂解：新鲜组织100 mg或干重组织30 mg

600  $\mu$ L 65 °C预热的**裂解液PL**（加样前加入 $\beta$ -巯基乙醇）

65°C水浴20-30 min（水浴前加5  $\mu$ L RNase A，选做）

分层：700  $\mu$ L氯仿或者氯仿/异戊醇(体积比24:1混合)

13,400 $\times$ g离心5 min取上清

结合：1.5倍体积**结合液PQ**，加入上一步混合物，13,400 $\times$ g离

心30 s可多次富集

去除抑制物：500  $\mu$ L**抑制物去除液IR**

13,400 $\times$ g离心30 s，弃上清

漂洗：600  $\mu$ L**漂洗液WB**（请先检查是否已加入无水乙醇！）

13,400 $\times$ g离心30 s；2次

去残留乙醇：13,400 $\times$ g空甩2 min

洗脱：100  $\mu$ L**洗脱液EB**（65-70°C预热）

室温静置3-5 min，13,400 $\times$ g离心1 min

可重复洗脱一次，长期储存-20°C

## 08/相关产品

AA1904-A RNase A（10 mg/mL）

AA1904-B RNase A（100 mg/mL）

AA0101 SPARKclassic 植物基因组DNA提取试剂盒

AA0103 SPARKeasy 植物基因组DNA快速提取试剂盒（小量）

AC0305 SPARKeasy 新型植物RNA快速提取试剂盒

AC0101 SparkZol Reagent

AF0802 2 $\times$  SparkHiFi Max Master Mix（with dye）

AF0803 2 $\times$  SparkHiFi Max Master Mix（without dye）

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

