

Version: AA 4.0 (2024.02.22修订)

SPARKeasy Plant DNA Kit

小量植物基因组DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA0103

01/产品组分

序号	组分	50 次	200 次
		AA0103-A	AA0103-B
1	RNase A (10 mg/mL)	250 µL	1 mL
2	缓冲液 AP1	20 mL	80 mL
3	缓冲液 AP2	7 mL	26 mL
4	缓冲液 AP3/E	15 mL	25 mL×2
		第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 30 mL	50 mL×2
5	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
6	洗脱缓冲液 EB	15 mL	20 mL
7	吸附柱 AC	50 个	200 个
8	收集管 (2 mL)	50 个	200 个

02/保存条件

RNase A 于 -20°C 保存, 其它组分室温 (15-25°C) 保存。

03/产品概述

该试剂盒采用 DNA 吸附柱和新型独特的溶液系统, 适合于从含酚类、多糖类和酶抑制物的植物样品中快速简单地提取基因组 DNA。可在 30 min 内完成一个或多个 100 mg 新鲜或 20 mg 干燥的植物样品 DNA 的纯化工作。纯化的 DNA 可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。

新鲜或干燥的植物组织 (细胞) 磨碎后经裂解液裂解, 蛋白质、多糖、细胞残片被沉淀去除, 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、多糖等杂质去除, 最后低盐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)
拟南芥	100 mg	3-4 µg	1.7-1.9
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
油菜	100 mg	2-4 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

04/自备材料

无水乙醇

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

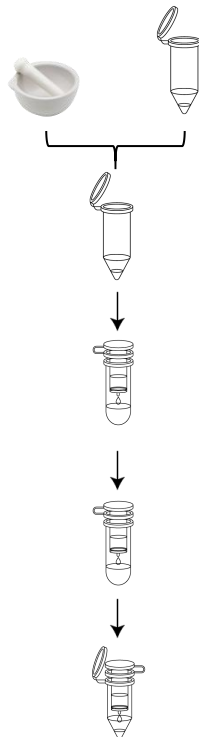
- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25°C）下进行。
- ◇ 缓冲液 AP3/E 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 缓冲液 AP1、AP3/E 低温时可能出现析出和沉淀，可在 65°C 水浴几分钟帮助重新溶解（AP3 加入乙醇前可加热，加入乙醇后不可加热），恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化等影响，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在缓冲液 AP3/E 和漂洗液 WB 中分别加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！

06/使用方案

1. 取新鲜植物组织 100 mg 左右或干重组织 20 mg 左右，加入液氮充分碾磨成细粉，转移细粉至 1.5 mL 离心管中。
2. 向离心管中加入 400 µL 缓冲液 AP1 和 4 µL RNase A（10 mg/mL），旋涡振荡，充分混匀帮助裂解。
▲ 如果组织裂解困难，可根据需要加一个轻柔匀浆 10 s 的步骤帮助裂解。
3. 65°C 水浴 10 min，在水浴过程中颠倒混匀样品 2-3 次。
4. 加入 130 µL 缓冲液 AP2，充分混匀，冰上放置 5 min，12,000 rpm（13,400×g）离心 5-10 min，小心吸取上清至一个新的 1.5 mL 离心管，注意不要吸到界面物质。

5. 计算上清量，加入1.5倍体积的缓冲液AP3/E（请先检查是否已加入无水乙醇！），立即吹打混匀。
▲将AP3/E直接加入到上清并立即吹打混匀，加入AP3/E可能会出现絮状沉淀，但不影响DNA提取。
6. 将上一步所得混合物加入一个吸附柱AC中12,000 rpm（13,400×g）离心30-60 s，弃废液。
7. 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。
8. 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。
9. 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。
10. 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20 mg

400 μL 缓冲液AP1，4 μL RNase A（10 mg/mL）

65°C水浴10 min

去蛋白：130 μL 缓冲液AP2，充分混匀，冰上放置5 min

13,400×g离心5 -10 min，取上清

结合：1.5倍体积缓冲液AP3/E（请先检查是否已加入无水乙醇！）

将混合物加入吸附柱AC，13,400×g离心30-60 s，可多次富集

去盐离子：600 μL漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！）

13,400×g离心30 s，弃上清；两次

去残留乙醇：13,400×g空甩2 min

洗脱：100 μL洗脱液EB（65-70°C预热）

室温静置3-5 min，13,400×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
- AA0102 SPARKeasy 植物基因组DNA快速提取试剂盒 (多糖多酚型、小量)
- AC0305 SPARKeasy 新型植物RNA快速提取试剂盒
- AC0101 SparkZol Reagent
- AF0802 2×SparkHiFi Max Master Mix (with dye)
- AF0803 2×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

