

YALEPIC[®] 植物基因组 DNA 提取试剂盒 (不含 RNase A)

YALEPIC[®] Plant Genomic DNA Isolation Kit (No RNase A)

产品货号: YC22014 (50T) ; (试) YC22014 (5T)

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] Plant Genomic DNA Isolation Kit (No RNase A) 适用于从新鲜或干燥植物样本中提取总 DNA, 包括基因组 DNA, 线粒体 DNA 及叶绿体 DNA。本品可以处理多至 100 mg 的样本, 可纯化获得最大为 50 kb 的 DNA。本试剂盒采用先进的硅胶膜技术, 可在 1 h 内高效分离得到高纯度的 DNA, 同时去除 PCR 和其他酶促反应的抑制剂。纯化得到的 DNA 可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

产品组分

序号	产品组分	YC22014	(试) YC22014
①	PGA Buffer	40 ml	5 ml
②	PGB Buffer	40 ml	5 ml
③	Wash Buffer GA	13 ml	4 ml
④	Wash Buffer GB	16 ml	7 ml
⑤	YGE Buffer	15 ml	1 ml
⑥	Pure Columns YM with Collection Tubes	50 T	5 T

适用范围

- ≤ 100 mg 新鲜植物样本;
- ≤ 20 mg 干燥植物样本。

自备试剂及仪器

β-巯基乙醇、氯仿、无水乙醇; Nuclease-free 移液器吸头; Nuclease-free 离心管; 研钵; 高速离心机; 恒温水浴锅; 涡旋振荡仪等。

实验准备及注意事项

1. 本实验涉及刺激性化合物, 请务必提前做好防护措施, 穿戴实验服、乳胶手套、口罩等, 避免沾染皮肤, 眼睛和衣服。若沾染皮肤或眼睛时, 要用大量清水或生理盐水冲洗, 必要时可就医。
2. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
3. 避免液氮冻伤以及温差导致的离心管爆炸; 液氮研磨时防止样品融化, 及时补给液氮, 研磨后的样本如不立即进行下一步操作, 请置于 -70°C 保存。
4. 首次使用前 **Wash Buffer GA**、**Wash Buffer GB** 前, 应按试剂瓶标签加入无水乙醇。试用装 (5T) 中 **Wash Buffer GA**、**Wash Buffer GB** 已含无水乙醇, 使用后请立即盖好瓶盖防止乙醇挥发。
5. 使用前请检查 **PGA Buffer** 和 **PGB Buffer** 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀, 请将 **PGA**、**PGB Buffer** 置于 65°C 水浴重新溶解。
6. 在每次使用 **PGA Buffer** 前请加入 β -巯基乙醇, 1 ml **PGA Buffer** 加 1 μl β -巯基乙醇, 根据使用量酌情配制, 混合溶液可在室温保存 30 天。
7. 如果下游实验对 RNA 敏感, 可在加入 **PGA Buffer** 后加入 4 μl 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001), 振荡混匀 15 s。

实验流程

● 样本处理

1. 取植物新鲜组织约 100 mg 或干重组织约 20 mg, 加入液氮充分研磨。(注: 样品处理量不要超过试剂盒兼容量, 否则导致样品裂解不充分; 对于水分含量多的样本, 如草莓、西瓜等可适量增加样本量)
2. 将研磨后的粉末收集到 2 ml 离心管 (自备) 中, 加入 700 μl 65°C 预热的 **PGA Buffer** (确认已加入 β -巯基乙醇), 迅速颠倒混匀后, 将离心管置于 65°C 水浴 20 min, 过程中颠倒离心管混匀样品 5 ~ 8 次。(注: 如需进一步去除 RNA, 可在上述步骤完成后, 加入 4 μl 浓度为 100 mg/ml 的 RNase A 溶液 (YALI#YX27001), 振荡混匀 15 s, 室温放置 5 ~ 10 min)
3. 加入 700 μl 氯仿 (自备), 充分混匀, 12,000 rpm 离心 5 min, 小心将上层水相转入一新的 2 ml 离心管 (自备) 中, 加入 700 μl **PGB Buffer**, 充分混匀。

● 柱式纯化

1. 将所得全部溶液加入已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns YM with Collection Tubes**) 中, 可分多次转入。12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液, 将吸附柱放回管中。
2. 向吸附柱中加入 500 μl **Wash Buffer GA** (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃去收集管中废液, 将吸附柱放回收集管中。
3. 向吸附柱中加入 500 μl **Wash Buffer GB** (使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃去收集管中废液, 将吸附柱放回收集管中。重复该步骤一次。

4. 12,000 rpm 离心 2 min, 弃去收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。(注: 乙醇残留会影响后续的酶促反应, 应将吸附柱中残余的乙醇彻底去除)
5. 将吸附柱置于一个新的 Nuclease-free 离心管中, 向吸附柱的中间部位悬空加入 50 ~ 100 μ l **YGE Buffer**, 室温放置 2 ~ 5 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 收集溶液, -20°C 长期保存。
注:
 - 1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用 ddH₂O 洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响, 若用 ddH₂O 做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0 ~ 8.5, pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。
 - 2) 如果要提高 DNA 浓度, 可将得到的溶液重新加入到吸附柱中, 重复步骤 5。
 - 3) 如要增加产量, 可用新的 50 ~ 100 μ l YGE Buffer/ddH₂O 进行洗脱。
 - 4) YGE Buffer/ddH₂O 可在 56°C 提前预热, 滴加至膜中后, 室温静置 2 ~ 5 min。



常见问题及解决方案

常见问题	原因	解决方案
柱子堵塞	1.样品研磨裂解不充分	充分研磨，加入裂解液后立即混匀
	2.裂解物太粘稠	降低样品起始量，避免处理过量
	3.离心力太小	加大离心力
DNA 产量低	1.处理样品过量，裂解不完	减少样品用量，充分研磨。
	2.吸附柱残留乙醇	确保空柱离心 2 min，开盖放置几分钟，使残留乙醇彻底挥发。
	3.洗脱不充分	1) 洗脱液需加至吸附柱的膜中央； 2) 增加洗脱体积或次数。
DNA 溶液带颜色或膜上有色素残	1.样品起始量过多	减少样品起始量，避免过量。
下游结果不理想	1.乙醇污染	确保空柱离心 2 min，开盖放置几分钟，使残留乙醇彻底挥发。
	2.硅基质膜成分脱落	将洗脱的基因组 DNA 溶液 12,000 rpm 再离心 1 min，小心取上清使用。