

植物种子 DNA 提取

说明书

编号 组分	ZD-TG-26-50	ZD-TG-26-100	ZD-TG-26-200
mini 离心柱	50 个/包×1	50 个/包×2	50 个/包×4
1.5ml 离心管	50 个/包×1	50 个/包×2	50 个/包×4
Proteinase K	2mg/管×1	2mg/管×2	2mg/管×4
RNase A	2mg/管×1	2mg/管×2	2mg/管×4
溶液 ST	30 ml/瓶×1	40 ml/瓶×2	70 ml/瓶×2
溶液 GH	30 ml/瓶×1	50 ml/瓶×1	50 ml/瓶×2
溶液 W1	20 ml/瓶×1	40 ml/瓶×1	80 ml/瓶×1
溶液 W2	12 ml/瓶×1	24 ml/瓶×1	48ml/瓶×1
溶液 TE	25ml/瓶×1	50ml/瓶×1	50ml/瓶×2
说明书	1 份	1 份	1 份

■ 存储和稳定性

- Proteinase K (固体) 及 RNase A (固体) 长期保存应置于 2~8℃。盒内其余组分室温避光保存。
- 保质期：12 个月。

■ 产品介绍

适用于从各种谷物如小麦、大米、豆类以及其他植物种子中提取 DNA。产品采用独特的试剂配方和特别制造的固相吸附介质，在试剂配方中避免使用苯酚、氯仿等有毒有害化学物质，对操作人员、实验环境无毒害影响。

在产品独有的缓冲液体系的作用下，DNA 从各种样本中快速释放，吸附于高性能的固相基质，洗脱后即可获得高纯度 DNA。产物 DNA 的 $A_{260/280}=1.75\sim 1.85$ ，每个柱子最大 DNA 结合量可达 50 μ g。

■ 使用前准备

- 阅读说明书，备好必需的试剂和仪器。
自备仪器、耗材：小型离心机、研钵或粉碎机、无水乙醇、纯水、1.5ml 或 2ml 离心管。
盒中的 1.5 ml 离心管专用于收集最后一步的 DNA 溶液。
- 离心均室温进行。
- 使用溶液 ST 前观察瓶内液体是否浑浊或沉淀（室温过低时会浑浊或出现沉淀）。如有，50℃~60℃加热至液体澄清后摇匀使用。
- 首次使用前，分别向溶液 W1 和 W2 瓶中按标签要求加入无水乙醇，摇匀后标记备用。
- 首次使用前，每管 Proteinase K 和 RNase A 分别用 275 μ l 纯水完全溶解。酶溶解后如未立即用完，应分别按每次用量分装成小份并 -20℃ 保存备用。避免反复冻融使酶活力下降。

■ 操作步骤

1. 将植物种子用研钵或粉碎机粉碎。取 100mg 样品于离心管中，加入 400μl 溶液 ST、RNase A 5μl 及 Proteinase K 5μl，涡旋剧烈混匀 30sec 使样品完全散开。
2. 37℃ 孵育 30min（期间每隔 5~10min 混匀一次。用自动混摇仪消化效果更佳）。
3. 12000×g 离心 3min。将上清液（勿吸入沉淀，这会阻塞离心柱）移入新的离心管中。加入等体积的溶液 GH 及无水乙醇，充分混匀。
注：例如移入 250μl 上清液，则加入 250μl 溶液 GH 与 250μl 乙醇。
4. （选用，上步中加乙醇混匀后液体浑浊或出现沉淀时使用，若液体没有浑浊或沉淀时可省略）
最高转速（12000×g 以上）离心 3min，取上清，至步骤“5”。
5. 将液体移入套有收集管的 mini 离心柱中，12000×g 离心 2min。取出离心柱后弃去收集管中废液，将离心柱放回收集管。
注：一次最多可向柱中移入 600μl 液体。如未能将液体一次全部移入时，重复本步操作一次使液体全部过柱。
6. 向柱中加入 550μl 溶液 W1。12000×g 离心 1min。弃废液，将离心柱放回。
7. 向柱中加入 500μl 溶液 W2。12000×g 离心 30sec。弃废液，将离心柱放回。
8. 重复步骤“7”一次。
9. 最高转速（12000×g 以上）离心 2 min。
10. 将离心柱取出后放入新的 1.5ml 离心管中。向柱中加入 50~200μl 溶液 TE。室温放置 2~3min，12000×g 离心 1min。DNA 溶液收集在离

心管中。

注 1)：为提高得率，可向柱中央再加入 50~200μl 溶液 TE，室温放置后离心收集、合并 DNA 溶液。注意这会增大溶液体积并降低 DNA 浓度。也可将离心收集的 DNA 溶液重新加回柱膜中央后室温放置 2min，12000×g 离心 1min 收集液体，这可提升 DNA 浓度但在提高得率方面稍逊于前法。

注意！放入离心柱的 1.5ml 离心管最多容纳 200μl 液体。如果需两次洗脱并且使用的溶液 TE 总体积多于 200μl 时，使用不同的离心管收集两次的 DNA 溶液或将第一次收集的液体先取出保存。

下表为 mini 柱用溶液 TE 按不同方法洗脱 gDNA 得率(供参考)。

每次加入溶液 TE 的体积		50μl	100μl	200μl
D N A 得 率	步骤“10”溶液 TE 洗脱后	59 % (50μl)	74% (100μl)	78% (200μl)
	向柱中央再加入溶液 TE 洗脱后	82% (100μl)	87% (200μl)	92% (400μl)
	将步骤“10”收集的 DNA 溶液重新加回柱中再次洗脱后	72% (50μl)	82% (100μl)	87% (200μl)

*括号内为收集到的 DNA 溶液总体积。

注 2)：可选用纯水（自备）进行洗脱。纯水 pH 值不低于 7，且 DNA 产物应于 -20℃ 保存以防降解。

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页：www.genepure.com

电话：4008780133