

phaseperate 植物 DNA 提取试剂盒 (过柱法/磁珠法)

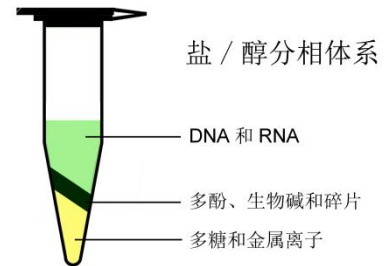
一、产品简介

植物中普遍存在多种影响常规核酸提取方法的成分,例如多糖、多酚和生物碱会明显降低核酸提取效率,金属离子(Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、铁 $^{2+3+}$)残留会导致核酸电泳弥散并且影响后续实验。

phaseperate 植物 DNA 提取试剂盒采用独创的盐/醇分相体系,避免使用苯酚和氯仿等有机溶剂,选择性将多糖、多酚、生物碱和金属离子等杂质分配于下相或者相间,将 DNA 分配于上相,从而将 DNA 与这类杂质分离;整体提取过程可在 1 小时内完成。

真菌通常含有大量多糖,也适合使用本试剂盒提取 DNA。

本试剂盒适合从 $\leq 100\text{mg}$ 新鲜植物、真菌组织,或者 $\leq 25\text{mg}$ 干燥的植物、真菌,或者 $\leq 5 \times 10^7$ 真菌细胞中获得纯净的 DNA,无多糖、多酚、金属离子等杂质残留,可直接用于 PCR、NGS 等实验。



二、试剂盒组成和储存

组成内容	MN202-S1 (50 次)	MN302-M3 (48 次)	原理与用途
产品描述	过柱法	磁珠法	
1M DTT	0.5 ml	0.5	还原剂
Buffer PFDL	20 ml	20 ml	裂解液, 释放核酸
Buffer PFDS	10 ml	10 ml	促使溶液分相
Buffer PFDB	15 ml	--	调整 DNA 结合条件
Buffer WAN	25 ml	--	洗涤去除蛋白
Buffer WB1 [§]	16 ml	--	洗涤去除盐
DNA 吸附柱-C15	50 个	--	吸附 DNA
收集管	2×50 个	--	接收废液
1.5 ml 离心管(用于洗脱)	50 个	--	接收洗脱的 DNA
TE [*]	15 ml	--	洗脱 DNA
MN302 预分装 96 孔板-2/8	--	3 块	配套使用 16/32/48 通道核酸纯化仪
磁棒套	--	3×2	加样孔位为 2 和 8

[§]Buffer WB1: 第一次使用前按试剂瓶所示体积加入无水乙醇,混合均匀。 ^{*}TE: 10 mM Tris-HCl, 0.1 mM EDTA, pH 8.0(25°C)。

所有组成成分于室温储存。

三、实验准备

- 液氮和研钵,或者其他研磨方式。
- 密封性良好的 1.5 ml 离心管。
- 65°C 水浴、金属浴或者温箱,推荐使用恒温震荡仪。
- 如需去除 RNA,需准备 RNase A1(50mg/ml)。
- 第一次使用前,按试剂瓶所示体积在 Buffer WB1 中加入无水乙醇,混合均匀。

四、操作步骤

所有离心条件为室温，12,000-16,000×g；如离心机只能设定转速，设定为低于最高转速 1,000 rpm。

本方法前处理的分相条件对试剂比例有严格要求，步骤 1 应选用密封性良好的 1.5 ml 离心管，以免在后续加热过程中水分蒸发；步骤 2 和 3 应准确加样，Buffer PFDL 和 Buffer PFDS 的比例为 5/3。

1. 称取≤100mg 新鲜植物、真菌组织或者≤25mg 干燥的植物、真菌组织，离心收集≤5×10⁷ 真菌细胞。

加入液氮充分研磨成粉末状，转入密封性良好的 1.5 ml 离心管中。

2. 准确加入 330 μl Buffer PFDL 和 10 μl 1M DTT，如需去除 RNA 同时加入 5 μl 1M RNase A1(50mg/ml 自备)，用力摇晃分散样品。

65℃温育 20 min，温育期间剧烈摇晃混合 1-2 次，延长温育时间至 1 小时不影响提取效果。

△ 所有试剂可预混，混合后需在 24 小时之内使用完。

3. 准确加入 200 μl Buffer PFDS，用力摇晃 10 次混合均匀，室温放置 10 min，延长放置时间至 1 小时不影响提取效果。

4. 再次用力摇晃 10 次混合均匀，离心 1 min，溶液分相，DNA 被分配在上相中。

5. 磁珠法：吸取 300 μl 上相转入 96 孔板的加样位 2 或者 8，按（五）磁珠法仪器运行参数继续操作。

过柱法：吸取 300 μl 上相转入干净的 1.5ml 离心管中，加入 300 μl Buffer PFDB，翻转离心管 5 次或移液器吹打 3 次；

转入 DNA 吸附柱-C15(置于收集管中)；离心 1 min，将 DNA 吸附柱-C15 转入另一个干净的收集管中。

6. 加入 500 μl Buffer WAN，离心 1 min，弃废液，将 DNA 吸附柱-C15 放回收集管中。

7. 加入 500 μl Buffer WB1，离心 1 min，弃废液，将 DNA 吸附柱-C15 放回收集管中。

8. 重复步骤 7。

9. 离心 2 min。

10. 将 DNA 吸附柱-C15 转入试剂盒携带的 1.5 ml 离心管中，在硅胶膜中央加≥25 μl TE 或者去离子水(pH≥7.0)，室温放置 1 min，离心 1 min。

五、磁珠法仪器运行参数

1. 将预分装试剂的 96 孔板 1000-2000 rpm 离心 2 min，撕去热封膜待用。

2. 在核酸纯化仪上插入磁棒套。

MN302 预分装 96 孔板-28 加样孔位为 2 和 8，仪器运行过程无需加热步骤，运行时间约 12 min。

步骤	孔位	混合时间 (min)	混合速度	温度 (℃)	吸磁时间 (sec)	设定体积 (μl)	试剂分装
1	吸磁	1	0	--	20	250	磁珠 250 μl
2	吸附	2	3	快	20	600	Buffer PFDB 300 μl
3	漂洗 1	3	1	快	20	650	Buffer WAN 650 μl
4	漂洗 2	4	1	快	20	700	Buffer WB1 700 μl
5	漂洗 3	5	1	快	20	750	Buffer WB1 750 μl
6	挥发乙醇	5	0	--	吸磁后等待 3 min	--	
7	洗脱	6	1	快	20	100	去离子水 100 μl