

植物油 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

植物油 DNA 提取试剂盒	5 次制备	20 次制备
Cat. No.	3109005	3109020
连接管	5 个	20 个
纯化柱延长管	5 个	20 个
核酸纯化柱	5 个	20 个
2 ml 离心管	5 个	20 个
Buffer OL	60 ml	240 ml
Carrier RNA	45 μ l	180 μ l
蛋白酶 K 贮存液	0.6 ml	1.2 ml \times 2
Buffer P	120 ml	240 ml \times 2
Buffer WA (浓缩液)	1.9 ml	6.5 ml
Buffer WB (浓缩液)	1.5 ml	6 ml
Buffer TE	0.3 ml	1.2 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存与有效期

- Carrier RNA 和蛋白酶 K 贮存液可室温运输，收到后请置于 -20°C 贮存。
- 其他试剂与物品如果储存于常温 (0~30°C)，可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品储存于 2~8°C，可延长产品的有效期至两年以上 (2~8°C 储存的产品使用前应先恢复到室温后再使用)。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒采用了特制的提取液 Buffer OL，并辅助以蛋白酶 K 消化，充分释放了植物油中痕量的 DNA。在 Carrier RNA 的辅助下，柱纯化技术能高效地吸附各种植物油中痕量的小片段 DNA。吸附到纯化柱上的 DNA 经过两种洗涤液除去蛋白残留物和盐分后，用 Buffer TE 洗脱，获得的 DNA 可直接用于 PCR 检测等分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

- 无水乙醇
- 150 ml 锥形瓶、50 ml 离心管、1.5 ml 离心管、移液器及吸头
- 乳胶手套、一次性口罩等防护用品和纸巾
- 可使用 50 ml 离心管及 2 ml 离心管的离心机
- 恒温混匀器或摇床、负压装置 (Simgen Cat. No. A-100)
- 可能需要正己烷

使用前准备

- 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25°C。
- 根据试剂瓶标签上的指示在 Buffer WA 和 Buffer WB 中加入无水乙醇，并在标签的方框中打勾做好“乙醇已加”的标记。
- 将恒温混匀器或摇床的温度设置到 56°C。

操作步骤：

1. 取一个洁净的 150 ml 锥形瓶, 加入 10 ml 植物油(若为固体油, 则加入 10 g), 10 ml Buffer OL, 7.5 μ l Carrier RNA 和 100 μ l 蛋白酶 K 贮存液, 塞好瓶塞, 在恒温混匀器或摇床中 56°C, 200 rpm 温育 1 小时(固体油温浴时间可延长至 2 小时)。

* 如果固体植物油在 56°C 下无法完全融化, 则补加 10 ml 正己烷, 再在 56°C, 200 rpm 温育 1 小时。

2. 将锥形瓶中的液体全部倒入一个洁净的 50 ml 离心管中, 4500 rpm 离心 10 分钟。
3. 用吸头吸取下层水相(10 ml 左右)至一个洁净的 50 ml 离心管中, 注意不要吸入油相或中间白色沉淀, 以免影响后续的 DNA 提取效果。
4. 加入 2 倍体积的 Buffer P, 混合均匀。

* 比如吸取到的下层水相有 10 ml, 则需要加入 20 ml 的 Buffer P。

5. 将连接管插入到负压装置的插口上, 然后在连接管上插上核酸纯化柱, 最后在核酸纯化柱上插入纯化柱延长管(详见负压装置说明书)。吸取 20 ml 步骤 4 中的混合液到纯化柱延长管中, 开启负压, 使液体全部滤过核酸纯化柱。

* 为了避免交叉污染, 请不要将连接管重复使用。

* 为了避免交叉污染, 不要将纯化柱直接插入到负压装置的插口上。

6. 暂停负压, 将步骤 4 中剩余的混合液全部倒入纯化柱延长管中, 开启负压, 使液体全部滤过核酸纯化柱。
7. 暂停负压, 取下并丢弃纯化柱延长管, 向核酸纯化柱中加入 600 μ l Buffer WA, 开启负压吸尽纯化柱中溶液。

* 确认在 Buffer WA 中已经加入无水乙醇

8. 暂停负压, 向核酸纯化柱中加入 800 μ l Buffer WB, 开启负压吸尽纯化柱中溶液。

* 确认在 Buffer WB 中已经加入无水乙醇。

9. 关闭负压, 待负压消失后取下并丢弃连接管, 将核酸纯化柱放入试剂盒提供的 2 ml 离心管中, 盖上管盖, 14000 rpm 离心 1 分钟。

* 如果离心机的离心速度达不到 14000 rpm, 则用最高速离心 2 分钟。

* 请勿省略该步骤, 否则可能因所纯化的核酸中混有乙醇而影响后续的 PCR 效果。

10. 弃 2 ml 离心管, 将核酸纯化柱置于一个洁净的 1.5 ml 离心管中, 在纯化柱的膜中央加入 30~50 μ l Buffer TE, 盖上管盖, 室温静置 2 分钟, 12000 rpm 离心 30 秒。

11. 弃纯化柱, 洗脱的 DNA 可立即用于 PCR 检测, 或者将 DNA 储存于 -20°C 备用。