

# 植物/种子DNA小量提取试剂盒（96孔板法）

使用说明书（版本号：Ver.0.0.1）

## 产品亮点

- ◆ 从各种植物/种子样本中分离无抑制剂、PCR质量DNA (5 $\mu$ g) 全流程只需50分钟。
- ◆ 获得的基因组DNA产量高、纯度好，可以直接用于酶切、PCR、高通量测序等分子生物学实验。
- ◆ 可以选配，超高密度裂解珠体系具有抗断裂性和化学惰性。

产品货号：

TD619-192（2\*96次）、TD621-192（2\*96次）



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

产品组份	1
技术简介	2
产品描述	2
操作步骤	3
FAQ常见问题及解决办法	5
其他产品订购信息	6
组件查询	8

## 产品组份

试剂盒组成	TD619-192	TD621-192	保存
裂解管 (2.0mm)	-	-	室温
裂解液	40ml*2	40ml*2	室温
基因组DNA裂解液	200ml	200ml	室温
基因组DNA洗涤液 1	60ml	60ml	室温
基因组DNA洗涤液 2	50ml*2	50ml*2	室温
基因组DNA洗脱液	10ml	10ml*2	室温
96孔方孔板 (方孔圆底2ml) (简称 96孔方孔板)	2块/盒	2块/盒	室温
96孔核酸纯化板-96孔浅孔板 (简称 96孔浅孔板)	2块/盒	2块/盒	室温
抑制物去除液	-	60ml	室温
96孔HRC板(抑制物去除板) (简称 抑制物去除板)	-	2块/盒	室温
96孔收集板 (圆孔圆底1.2ml) (简称 96孔收集板)	2块/盒	2块/盒	室温
96孔洗脱板 (V底350ul) (简称 96孔洗脱板 )	2块/盒	(2块/盒)*2	室温
封板膜	(2张/袋)*2	(2张/袋)*2	室温
说明书	1	1	室温

### 注意事项:

1. 产品仅供研究使用并应仅供训练有素的专业人员使用。本试剂盒中包含的一些试剂是刺激物。
2. 请戴好防护手套和护眼用品。遵循您的研究机构或设施制定的安全准则和规则。
3. 售出一年内产品质量是可以保证。产品已经过大量的常规检测来保证其可操作性。环境温度低时基因组DNA裂解液或基因组DNA洗涤液1可能出现析出和沉淀，可以在37°C水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
4. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

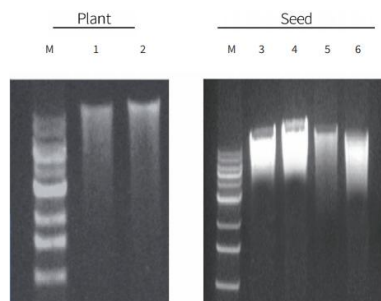
## 技术简介

- ◇ 样品前处理：可选择使用液氮研磨或裂解管+样品匀浆仪（说明书最后有推荐）。
- ◇ 样品来源：最多80mg，包括叶、茎、芽、花、果实、种子等、种子等。
- ◇ DNA产量：通常为20-80ng DNA/mg植物材料。
- ◇ DNA纯度：高质量、无抑制剂的DNA，适合PCR扩增（A260/A280 > 1.8）。
- ◇ DNA大小限制：可回收高达或超过40kb的基因组DNA。在大多数情况下，线粒体DNA和病毒DNA（如果存在）也能被回收。
- ◇ DNA回收率：通常情况下，50  $\mu$ l的DNA洗脱液最多可洗脱5 $\mu$ g的总DNA。
- ◇ 设备：微离心机、涡旋、细胞破碎器/粉碎机（简石生物的：TI2019）。

## 产品描述

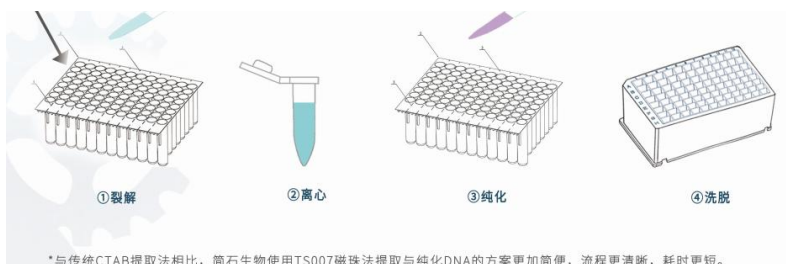
- ◇ 植物/种子DNA小量试剂盒（96孔板法）设计用于从各种植物样本（包括叶、茎、芽、花、果实、种子等）中简单、快速地分离出无抑制剂、PCR质量高的DNA。只需植物样品（每份样品 $\leq$ 80mg）直接加入裂解管（2.0mm）中，通过配合研磨设备，使珠子跳动高效地研磨裂解样品。无需使用有机变性剂或蛋白酶。

1、高回收率



使用植物DNA提取试剂盒比较各种植物和种子样品的DNA产量。用等体积的洗脱DNA处理等量的植物材料，并在EtBr染色的0.8% (w/v) 琼脂糖凝胶中进行分析。拟南芥（1）、杜松（2）、玉米粒（3、4）、葵花籽（5、6）。

- ◇ 推荐步骤：样品前处理过滤-核酸纯化-抑制剂过滤去除（去除DNA中的多糖和多酚/腐殖酸）。



## 操作步骤

可选步骤：添加β巯基乙醇到基因组DNA裂解液中，终浓度为0.5%。（例如：1ml到200ml的基因组DNA裂解液中）

样品前处理建议的方案：（配套耗材组件需单独购买）

少量样品-手动	少量样品-自动	大量样品-自动
液氮充分研磨	配合24通道研磨仪	配合高通量研磨仪（4*96）
		
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 取80mg以内的新鲜植物样品或种子剪切或碾压后，加入液氮充分研磨。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 直接添加80mg以内的植物或种子样品仔细的剪切后放到裂解管内,然后添加400μl的裂解液到管子中，拧紧盖子。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 直接添加80mg以内的植物或种子样品仔细的剪切后放到96孔收集板内，然后添加400μl的裂解液到每个孔洞中，请盖好对应的盖板膜。</li> </ol>
<ol style="list-style-type: none"> <li>2. 然后将研磨好的粉末迅速转移到收集管中，加入750μl裂解液，用枪头反复吹打使粉末和裂解液充分混匀，匀浆样品5分钟，使得核酸和蛋白复合物完全分离，品颜色会变的稍微灰暗。</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>2. 在涡旋仪上最大速下振荡5分钟以上，混匀。（如果使用高频振荡器时间可以适当缩短，推荐使用高频破碎仪T12019）。仪器程序设置建议：植物/昆虫(60Hz，45-60s/周期×2，间隔2-3分钟)</li> </ol>	<ol style="list-style-type: none"> <li>2. 在涡旋仪上最大速下振荡5分钟以上，混匀。（如果使用高频振荡器时间可以适当缩短，推荐使用高通量破碎仪T19970）。仪器程序设置建议：植物/昆虫：(60Hz，45-60s/周期×2，间隔2-3分钟)</li> </ol>

3. 样品研磨完成后将裂解管放到离心机里，在 $\geq 5,000xg$ 下离心1分钟。（由于植物多样性非常丰富，针对多糖多酚类样品步骤3可将离心力变更为：在 $\geq 10,000xg$ 下离心5分钟）（如果此处裂解容器是96孔板，需要根据离心机型号，请适度调低离心力。保证植物杂质可以沉淀到管底）
4. 将上一步所得上清250μl加到96孔方孔板（方孔圆底2ml）中。

5. 添加750 $\mu$ l的基因组DNA裂解液到上一步的96孔方孔板孔中，贴上封板膜，涡旋震荡2分钟，在 $\geq 3,000$  xg下（最大5,000 xg）离心5分钟，揭开封板膜。
6. 将96孔浅孔板扣到一个96孔收集板上，并将上一步混合物500 $\mu$ l直接添加到96孔浅孔板的孔中，在 $\geq 3,000$  xg下（最大5,000 xg）离心5分钟。
7. 去除96孔收集板里的废液，重复第5步，倒掉废液。
8. 添加200 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液1到96孔浅孔板的孔中，96孔浅孔板扣在96孔收集板上，在 $\geq 3,000$  xg下离心5分钟。
9. 添加500 $\mu$ l的基因组DNA洗涤液2到96孔浅孔板的孔中，96孔浅孔板扣在96孔收集板上，在 $\geq 3,000$  xg下离心5分钟。
10. 将96孔浅孔板扣在一个干净的96孔洗脱板上，直接添加100 $\mu$ l（最少50 $\mu$ l）的基因组DNA洗脱液到96孔浅孔板的孔中（洗脱液事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中预热效果更好），在 $\geq 3,000$  xg下离心5分钟洗脱DNA。
11. 将洗脱的基因组DNA放入之前制备好的96孔抑制物去除板内，在 $\geq 3,500$  xg下离心3分钟洗脱DNA。

最后的选做步骤：以下步骤为购买TD621-192试剂盒的客户。

（此步骤目的在于，通过抑制物去除柱，过滤去除DNA中的多糖和多酚/腐殖酸。如果不需要去除可选择不做）

12. 将抑制物去除柱套在一个收集管内，添加300 $\mu$ l的抑制物去除液，在 $\geq 8,000$  xg下离心3分钟。
13. 将洗脱的基因组DNA放入制备好的抑制物去除柱内，抑制物去除柱套在一个干净的1.5ml离心管内，并在16,000 xg下离心3分钟，得到的DNA可进行后续PCR等试验。

## FAQ常见问题及解决方法

Q, 问题	A, 可能的原因和推荐的解决方案
<p>是否可以处理其他类样品？</p>	<p>此试剂盒植物样品通用，除了我们在简介中显示的内容外，还可以处理的植物清单：杜松、被子植物门乳草叶及开花前芽、玉米粒、葵花籽等。</p> <p>如果您想处理多糖多酚类样品如：草莓、西瓜、植物根茎等多淀粉糖类植物样品，我们更推荐：</p> <p>多糖多酚DNA提取试剂盒（TB621磁珠法）</p> <p>多糖多酚RNA提取试剂盒（TB226磁珠法）（TD225柱式法）</p>
<p>裂解物很粘稠，是什么原因导致这种情况发生？应该如何解决</p>	<p>粘性样品可能表明样品裂解不完全。尝试使用较少的样品并优化前处理的裂解条件(持续时间、速度、时间)，以确保样品彻底裂解。</p> <p>物理裂解样品后，在继续进行沉淀细胞碎片。向裂解物中添加更多的基因组DNA裂解液有助于稀释和脱离蛋白样品，使样品粘度降低，更适合DNA后续的纯化回收。</p>
<p>样品前处理，优化裂解条件有什么技巧吗？</p>	<p>我们已经使用高速均质仪和低速均质仪验证了我们的套件。我们强烈建议用户针对自己的仪器优化前处理裂解条件。我们建议使用2ml管适配器内含&gt; 2.0mm裂解柱，以确物理裂解的有效。</p> <p>对于高速均质机（在裂解方式上一般分为两种：垂直震荡款和“8”字旋转款）我们建议高速均质机的常规的程序设定为：</p> <p>垂直震荡款：（60Hz，45-60s/周期×2，间隔2-3分钟）推荐机型TI2019。</p> <p>“8”字旋转款：（6m/s，30s/周期×2，间隔2-3分钟）推荐机型TI2023-24。</p> <p>较坚硬难破碎样本如：小麦、水稻、玉米种子、植物根茎等多淀粉糖类植物。</p> <p>匀浆条件：7m/s或70hz，45s/周期×2，间隔2-3分钟。</p> <p>较新鲜，水分较多糖分较多如：新鲜叶片、各类果实草莓、西瓜等。</p> <p>匀浆条件：6m/s或50~60hz，30s/周期×1。</p> <p>对于低速均质仪，我们建议以最大速度运行30分钟。</p>
<p>抑制物去除柱（3号HRC），步骤的目的是？</p>	<p>环境样品通常含有抑制剂，如多酚、腐殖酸/富里酸、单宁、黑色素等。通常会协同纯化并影响下游应用，例如PCR。抑制物去除柱（3号HRC）可去除这些多酚PCR抑制剂，以回收可用于敏感下游应用的DNA，例如NGS，定量PCR等。</p>
<p>是否需要添加β巯基乙醇，此步骤可以替换或者省略吗？</p>	<p>建议添加β-巯基乙醇以增强样品裂解，但可以用二巯苏糖醇（DTT，终浓度为10mM）代替。但是，如果样品前处理-裂解环节得到优化并且裂解有效，则不需要添加BME，可以省略。</p>
<p>是否需要RNase A处理？</p>	<p>此系列产品，可回收不含RNA的基因组DNA。选择性化学允许双链DNA与纯化柱结合并让RNA流过。在试剂盒限定的样品量内提取DNA时候，是无需使用RNase A处理的。</p>

## 其他产品订购信息



### TI2018 智能样品研磨仪 (手持)

可与市场常见的 DNA、RNA 提取试剂盒配合使用；像移液器一样小巧、轻便，能有效减少样品损失；样品裂解液更充分可在 1.5ml/2.0ml 离心管内研磨，可达到研磨和混匀的效果；标配塑料研磨杵，不锈钢研磨杵，产品标配两节 3.7V 可充电电池，每节电池可连续工作 10 小时以上。



### TI2019 智能样品研磨仪 (垂直震荡仪)

操作简便：内置程序控制器；人性化操作界面；稳定性好：采用垂直振荡方式，研磨充分仪器运行过程中，噪音小于 65dB；重复性好：同一组织样本设定相同程序，获得相同的研磨效果。



### TI2023-24 生物样品均质仪 (8字旋转破碎仪)

快速破碎、裂解大部分生物样品（动物、植物、人类组织、土壤等）；快速处理 24 个样品；针对不同的样品可以选择对应的程序；高强度 PVC 防护罩，及开盖自动停止运行，使操作更安全。



### TI2023-24R 生物样品均质仪 (低温)

快速破碎、裂解大部分生物样品（动物、植物、人类组织、土壤等）；快速处理 24 个样品；50 个程序储存，针对不同的样品可以选择对应的程序；牢固的上盖锁结构，及开盖自动停止运行机制，使操作更安全；可制造低温研磨环境，最大限度的避免核酸的降解和保证核酸的完整性。



### TI9970 超高通量研磨仪 (垂直震荡仪)

超高通量组织研磨机可存储实验数据，根据不同实验样本，来选择破碎程序；可配不同模块，来实现不同试管的研磨系统独特的设计可以轻松处理来源不同种类样品。



### TI9548R 智能样品研磨仪 (垂直震荡仪)

通量高：高效快速的工作可以在 15 秒内完成 1.5/2ml×96、个样品的研磨；操作简便：内置程序控制器；人性化操作界面；稳定性好：采用垂直振荡方式，研磨充分仪器运行过程中，噪音小于 65dB；重复性好：同一组织样本设定相同程序，获得相同的研磨效果。



## 其他产品订购信息

DNA/RNA保护剂系列		
TR110	DNA/RNA Shield-固体样品保护剂	瓶
TR120	DNA/RNA Shield-液体样品保护剂	瓶
TS001-TS010	各类样品的采样套装 (含RNA保护剂)	套
难以裂解样品-辅助耗材和设备		
TS6003	植物/动物组织-裂解管 (2.0 mm)	50支/包
TS6012	微生物--裂解管 (0.1 + 0.5 mm)	50支/包
TS6014	组织/昆虫中的微生物--裂解管 (0.1 + 2.0 mm)	50支/包
TI2019	样品研磨仪 (垂直震荡) -适合植物/组织DNA提取	1台
T9548R	冷冻研磨仪 (垂直震荡) -适合植物/组织RNA提取	1台
TI2023-24	样品均质仪 (“8”字旋转常温款) -适合微生物DNA	1台
TI2023-24R	冷冻样品均质仪 (“8”字旋转低温款) -微生物RNA	1台
RNA提取纯化系列		
Direct-zol (从Trizol裂解物中纯化RNA)		
TR201	总RNA提取试剂 (TRIcom Reagent) (固体样本)	50/100ml
TR205	小量总RNA提取试剂盒-50	50/200次
TB210	总RNA提取试剂盒 (配合TRIZOL磁珠法)	32/96次
Quick-RNA (任何样品的RNA提取纯化)		
TR150	快速RNA微量提取试剂盒-10	50/200次
TR154	快速RNA小量提取试剂盒-100	50/200次
TR225	多糖多酚植物RNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TB226	多糖多酚植物RNA提取试剂盒 (磁珠法)	48次
RNA-Seq (RNA建库产品)		
R3000	Zymo-Seq RiboFree Total RNA Library Kit	12/96次
DNA提取纯化系列		
TD468-50	通用基因组DNA小量提取试剂盒	50/200次
TD476-50	血浆cfDNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TD367-50	FFPE样品DNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TD361-50	尿液DNA提取试剂盒 (离心柱)	50次
TD601-50	快速土壤/粪便DNA提取试剂盒	50次
TD605-50	快速真菌/细菌DNA提取试剂盒	50次

## 组件查询

组件名称	货号	规格
裂解管 (2.0mm)	TS6003-50	50个/包
裂解液	TD6001-3-40	40ml
	TD6001-3-160	160ml
基因组DNA裂解液	TD3004-1-100	100ml
	TD3004-1-200	200ml
基因组DNA洗涤液1	TD3004-5-15	15ml
	TD3004-5-60	60ml
	TD3004-5-250	250ml
基因组DNA洗涤液2	TD3004-2-50	50ml
	TD3004-2-200	200ml
基因组DNA洗脱液	TD3004-4-10	10ml
	TD3004-4-4	4ml
96孔方孔板 (方孔圆底2ml) (简称 96孔方孔板)	P1001-2	2块/盒
96孔核酸纯化板-96孔浅孔板 (简称 96孔浅孔板)	TC2001	2块/盒
抑制物去除液	TD6035-1-30	30ml
	TD6035-1-50	50ml
	TD6035-1-250	250ml
96孔HRC板 (抑制物去除板) (简称 抑制物去除板)	TC2009	2块/盒
96孔收集板 (圆孔圆底1.2ml) (简称 96孔收集板)	TC2002	2块/盒
96孔洗脱板 (V底350ul) (简称 96孔洗脱板)	TC2003	2块/盒
封板膜	TC2007	2张/袋