

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 Cat. No.	5 次制备 3109005	20 次制备 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

1. Carrier RNA 和蛋白酶 K 贮存液可室温运输，收到后请置于 -20℃ 贮存。
2. 其他试剂与物品如果储存于常温（0~30℃），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℃，可延长产品的有效期至两年以上（2~8℃ 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

1. 无水乙醇
2. 锥形瓶（容积随样本量变化，具体参考操作步骤 1 下方小字）、50 ml 离心管、1.5 ml 离心管、移液器及吸头
3. 乳胶手套、一次性口罩等防护用品和纸巾
4. 可使用 50 ml 离心管及 2 ml 离心管的离心机
5. 恒温混匀器或摇床、负压装置（Simgen Cat. No. A-100）
6. 可能需要正己烷

使用前准备

1. 如果离心机有制冷功能，请将温度设置到 25℃。
2. 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。
3. 将恒温混匀器或摇床的温度设置到 56℃。

操作步骤：

1. 取一个洁净的合适容积的锥形瓶，加入 10-100 ml 植物油（若为固体油，则加入 10-100 g），再加入 10 ml Buffer OL，塞好瓶塞，在恒温混匀器或摇床中 56°C，200 rpm 振荡温育 30 分钟（若固体油无法完全融化，可延长温育时间或提高温度）。

* 锥形瓶中所装液体体积尽量不要超过容积的二分之一，否则会影响振荡混匀的效果。如果使用的样本量过多，没有合适容积的锥形瓶，可以将植物油和 10 ml Buffer OL 均分到数个锥形瓶中振荡温浴。

* 如果想获得更多的 DNA，可以在步骤 1 后离心去掉上层大部分油相，然后向下层的 Buffer OL 中继续加入 10-100 ml 植物油，56°C，200 rpm 振荡温育 30 分钟。如此重复 5-10 次以达到富集 DNA 的目的。

2. 将步骤 1 中的混液均分到洁净的 50 ml 离心管中（每管最多装 40 ml 液体），4500 rpm 离心 10 分钟。用吸头吸取下层水相（若有沉淀或中间层，一并吸取），合并到一个新的 50 ml 离心管中。

3. 加入 7.5 μ l Carrier RNA 和 100 μ l 蛋白酶 K 贮存液，拧紧盖子，旋涡振荡混匀，在恒温混匀器或摇床中 56°C，200 rpm 振荡温育 30 分钟。

4. 加入 2 倍体积的 Buffer P，混合均匀。

* 若步骤 2 操作时混入了少量油或者步骤 3 振荡温浴后还有沉淀没有完全溶解，可在本步骤先 4500 rpm 离心 10 分钟，吸取下层水相至一个洁净的 50 ml 离心管中，再加入 2 倍体积的 Buffer P，混合均匀。

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。