



新型植物基因组 DNA 提取试剂盒 说明书

产品编号: DE222-50T

运输及储存条件: 本试剂盒全部组分均可常温运输; RNase A 保存于-20°C, 其余组分保存于常温; 有效期 18 个月。

产品内容:

产品内容	保存	50T
缓冲液 CP1 (Buffer CP1)	室温	21 mL
缓冲液 CP2 (Buffer CP2)	室温	7 mL
缓冲液 CP3 (Buffer CP3)	室温	16 mL (用前请加入 24mL 无水乙醇)
漂洗液 PW (Buffer PW)	室温	13 mL (用前请加入 52mL 无水乙醇)
洗脱缓冲液 EB (Buffer EB)	室温	6 mL
DNA 吸附柱 (CB)	室温	50 套
RNase A (10 mg/mL)	-20°C	210 μL
说明书		1 份

产品介绍:

新型植物基因组 DNA 提取试剂盒提供了一套简单高效安全提取多种植物组织细胞中基因组 DNA 的方法。采用本公司独家研制的缓冲液系统及特异性结合 DNA 的离心吸附柱, 可以短时间内裂解植物细胞, 高效释放 DNA; 离心吸附柱可以高效, 专一结合 DNA。提取过程无需使用苯酚、氯仿等有机试剂抽提。新的缓冲液系统可以有效去除蛋白、多糖类、酚类和酶抑制物等杂质。提取的基因组 DNA 片段大, 纯度高, 质量稳定可靠, 可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。

产品特点:

- 1、适用范围广, 可以适用于绝大多数植物的各种组织。
- 2、快速, 简捷, 单个样品操作一般可在 40 min 内完成。
- 3、使用过程安全, 不使用有毒有害试剂。
- 4、提取的 DNA 纯度较好, OD_{260/280} 典型的比值可以达到 1.8 以上。可以直接用于酶切、PCR、Southern Blotting 等各种后续分子生物学实验。



注意事项：

1. **缓冲液 CP1、CP3** 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 **65°C** 水浴几分钟帮助重新溶解（CP3 加入乙醇前可加热，加入乙醇后不可加热），**恢复澄清透明后冷却到室温**即可使用。
2. **自备试剂：** 无水乙醇
3. **缓冲液 CP3** 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。
4. 样品应避免反复冻融，以免 DNA 降解或产量下降。
5. 不同来源的植物组织材料中提取 DNA 的量会有差异。一般 **100 mg** 新鲜组织典型产量可达 **3-25 μg**。
6. 如果样品 DNA 含量低或产量低，可扩大提取组织量，按比例扩大**缓冲液 CP1 和缓冲液 CP2** 的加入量。
7. **RNase A** 长期保存应当存放在-20 冰箱。

操作步骤：（在开始操作前请先阅读注意事项）

1. 称取植物新鲜组织 100 mg 左右（或干重组织 20 mg 左右），在研钵中，液氮研磨成细粉后转移至 1.5 mL 离心管中。
注： ①如需要较高产量，请尽量选择幼嫩新鲜的植物组织；②研磨越细，提取效果越好；③称取时可适量多称一些，以弥补粉末粘在研钵上的损失。
2. 研磨后的样品不要化冻，加入 400 μL **缓冲液 CP1** 以及 4 μL 的 **RNase A**（10 mg/mL）。立刻涡旋振荡混匀 1 min。
可选： 多酚含量特别高的样品可再加入 **0.2%**的β-巯基乙醇。
注： ①可将 **CP1、RNase A** 等先加入 1.5 mL 离心管中后再将研磨好的样品加入；
②涡旋震荡过程中辅助以上下剧烈摇晃可加快样品混匀，或者使用大口径枪头吹打混匀。
3. 室温放置 10 min。期间上下颠倒混匀 2-3 次帮助裂解。
可选： 如果想要获得更高产量，也可选择在 **65°C**水浴 10-30 min。
4. 加入 130 μL **缓冲液 CP2**，涡旋振荡混匀 1 min。
5. 12,000 rpm 室温离心 5 min。小心转移上清液（约 500 μL）到一个新的 1.5 mL 离心管中，



尽量不要吸取得到漂浮的杂质。

可选：如果吸取后的上清仍有较多漂浮的杂质，可再次 12,000 rpm 室温离心 5 min。小心转移上清液到一个新的 1.5 mL 离心管中。

注：①此步骤离心后，可能在上清中会有一些漂浮的杂质，属于正常现象。可以通过减少初始样品量、提高此步骤转速或离心时间减少杂质的产生。②转移后的上清中含有少量杂质不影响后续提取过程及提取效果。

6. 在上一步所得的上清中（约 500 μ L）加入 750 μ L（1.5 倍上清体积）的**缓冲液 CP3**，立即涡旋振荡或上下颠倒数次混匀后，分多次转移到 DNA 吸附柱 **CB** 中（每次上柱体积 \leq 750 μ L），12,000 rpm 离心 1 min，弃穿透液。

7. 在吸附柱中加入 600 μ L **漂洗液 PW**，12,000 rpm 离心 1 min，弃穿透液。重复一次。

可选：如果吸附柱上残留有色素，在吸附柱中加入 500 μ L 无水乙醇，12,000 rpm 离心 1 min，弃穿透液。

8. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm 离心 2 min。

注：此步骤是为了去除吸附柱上残留的乙醇，不可省略，残留乙醇会影响下游酶反应。

9. 将吸附柱放入一个干净的 1.5 mL 离心管中。在吸附柱的膜中央悬空加入 100 μ L 已经 65 $^{\circ}$ C 预热的**洗脱缓冲液 EB**，室温静置 2 min 后 12,000 rpm 离心 2 min。

可选：将穿透液重新加入吸附柱中央，室温静置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min 以洗脱更多基因组 DNA。

注：洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果预计和需要的产量高，可适当增大洗脱体积，如果需要 DNA 浓度较高，可适当减小洗脱体积，但最小体积不应少于 50 μ L，体积过小会降低洗脱效率，减少产量。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响。若用 ddH₂O 洗脱，应保证其 pH 值在 7.5-8.0 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。

10. 0.8%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测 DNA 质量（完整性、浓度及纯度）。

注：如果得到的 DNA 中有 RNA 残留，可以向 DNA 溶液中加入 1%的 **RNase A**（10 mg/mL），室温放置 30 min 或 37 $^{\circ}$ C 孵育 10 min 以去除 RNA 残留。处理后的 DNA 可直接用于下游反应。



11. 将所得的基因组 DNA 短期存放于 2-8°C，长期存放应分装成小份后保存于-20°C 冰箱，避免反复冻融。