

植物基因组 DNA 提取试剂盒 Plant Genomic DNA Kit

(离心柱型)

目录号：ZP309

试剂盒内容：

试剂盒组成	ZP309-1 (20 次)	ZP309-2 (50 次)	ZP309-3 (100 次)
RNaseA(10 mg/ml)	150 μ l	300 μ l	600 μ l
植物缓冲液 A	15 ml	30 ml	50 ml
植物缓冲液 B	5 ml	10 ml	20 ml
植物缓冲液 C	15 ml	30 ml	50 ml
漂洗液 W2	15 ml	15 ml	2 \times 15 ml
洗脱缓冲液 TE	15 ml	15 ml	15 ml
吸附柱	20 个	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份	1 份

储存条件：

试剂置于室温 (15–25°C) 干燥条件下可保存 12 个月；更长时间的保存可置于 2–8°C。

产品简介：

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统，用于提取植物细胞中的基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除植物细胞中杂质蛋白及其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

提取得率：

材料	提取量	DNA 得量
植物组织	100 mg	3–30 μ g

* 不同来源的植物组织材料中提取的 DNA 的量会有差异

产品特点：

简单快速：一小时内即可获得超纯的基因组 DNA。

超 纯：获得的 DNA 可直接用于 PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若植物缓冲液 A 和 B 中有沉淀，可在 65°C 水浴中重新溶解，并摇匀后使用。
3. 所有的离心步骤都为使用台式离心机在室温下进行。

操作步骤：

使用前请先在漂洗液 W2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 组织处理：推荐使用方案 B

- A. 取植物新鲜组织约 100 mg 或干重组织约 30 mg，剪碎放入小号的研钵里，加入 500 μl 植物缓冲液 A 快速研磨至无大的组织团块，随后全部转移到一离心管中。
- B. 取植物新鲜组织约 100 mg 或干重组织约 30 mg，加入液氮充分碾磨。将研磨好的粉末迅速转移到预先装有 500 μl 植物缓冲液 A 的离心管中。

注意 如果需要去除 RNA，可在加入植物缓冲液 A 后，立即加入 5 μl RNaseA (10 mg/ml) 溶液，振荡混匀 15 秒。

2. 迅速涡旋混匀 1 分钟，将离心管 65°C 水浴 10 分钟（其间涡旋振荡混合样品数次，使样品混合更均匀）。
3. 加入 70 μl 植物缓冲液 B，涡旋振荡混匀 1 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 10 分钟。
注：若提取富含多酚或淀粉的植物组织，可在第 3 步前，用酚：氯仿/1：1 进行等体积抽提。
4. 小心地将上一步所得上清转入一个新的离心管中，加入加入上清液 0.5 倍体积的异丙醇，充分混匀。（上清中一般含有叶绿素而呈绿色，不影响提取。）
5. 将混匀的液体全部转入吸附柱中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒-2 分钟，弃掉废液。（吸附柱容积为 700 μl 左右，可分次加入离心。）
6. 向吸附柱中加入 500 μl 植物缓冲液 C，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 700 μl 漂洗液 W2（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒，倒掉废液，将吸附柱放回收集管中。
8. 向吸附柱中加入 500 μl 漂洗液 W2，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 秒，倒掉废液。
9. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟，倒掉废液。将吸附柱置于新的离心管中，室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR 等）实验。
10. 将吸附柱转入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-200 μl 洗脱缓冲液 TE，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟，将溶液收集到离心管中。
注意：为增加基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱中，室温放置 2 分钟，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 分钟。洗脱缓冲液体积不应少于 50 μl ，体积过小影响回收效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内（可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围），pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在 -20°C，以防 DNA 降解。

DNA 浓度及纯度检测

得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 $\mu\text{g/ml}$ 双链 DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 单链 DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。