



## 植物基因组 DNA 提取试剂盒

产品编号: NEP003-2

产品规格: 100T

### 产品简介:

本试剂盒适用于多种不同植物组织的基因组 DNA 的提取。对于多酚多糖的材料同样能提出质量较好的基因组 DNA。组织被裂解后, DNA 被释放出来, 在高盐的条件下, 硅基质膜的柱子特异的吸附 DNA, 在低盐高 pH 值得条件下, 被吸附的 DNA 被洗脱下来。纯化过的基因组 DNA 可以直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

### 组成:

成分	100 次	注意事项
$\beta$ -巯基乙醇	100 $\mu$ l	
Lysis Buffer	100 ml	室温低时可能有沉淀, 50°C 加热溶解
Binding buffer	80 ml	
Wash buffer A	48 ml	用前加入 32 ml 无水乙醇, 充分混匀
Wash buffer B	16 ml $\times$ 2	用前加入 64 ml 无水乙醇, 充分混匀
TE buffer	20 ml	
离心柱	100 个	单个最大吸附量 20 $\mu$ g

### 实验前试剂准备

Wash buffer A 中加入 32ml 无水乙醇

Wash buffer B 为两瓶装, 均为 16 ml, 分别加入 64 ml 无水乙醇

### 储存条件:

本试剂盒所有试剂均可常温保存, 避免阳光、紫外线直射。

### 步骤:

- 1、取植物新鲜组织 100mg 或者干粉样品 30mg, 加入液氮充分研磨成粉末状。样品量不应超过 100mg (干粉样品 30mg), 过多的样品使得裂解不充分, 最终会导致基因组 DNA 提取量减少。
- 2、实验前在 1.5 ml 离心管中加入 800  $\mu$ l 的 Lysis Buffer, 于 65°C 下预热, 然后加入  $\beta$ -巯基乙醇至终浓度为 0.1%。
- 3、将研磨好的粉末加到以上预备好的 Lysis Buffer 中, 65°C 水浴 20~30 min, 其间颠倒混匀样品数次。
- 4、加入 500  $\mu$ l 氯仿, 充分混匀, 12,000 rpm 离心 5 min。

**若植物组织富含酚类、糖类(淀粉)应在此步骤前进行 500 $\mu$ l 酚: 氯仿 (1: 1) 抽提一次。**

- 5、小心吸取上层水相转入一个新的离心管中, 加入 700  $\mu$ l Binding buffer, 充分混匀。
- 6、将混匀的液体转入离心柱中 (可分次转入), 12,000 rpm 离心 1 min。



- 加入 700  $\mu$ l Wash Buffer A (使用前请检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。
- 加入 700  $\mu$ l Wash buffer B (使用前请检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。
- 加入 500  $\mu$ l Wash buffer B, 12,000 rpm 离心 1 min, 弃废液。
- 再次 12,000 rpm 离心 2 min, 将离心柱置于新的离心管中, 并打开离心柱盖, 于室温或 37 $^{\circ}$ C 放置 5~10 min, 至无明显乙醇味。
- 加入 50-200  $\mu$ l TE buffer(事先预热 55-65 $^{\circ}$ C), 置于室温 2~5 min, 12,000 rpm 离心 2 min, 离心管中即为所提取的基因组 DNA 溶液。

### 纯化效果检测:

取 2-5 $\mu$ l 得到的 DNA 产物, 0.7% agarose 电泳检测 DNA 分子的完整性, 紫外分光光度计检测浓度和纯度。

DNA 在 260 nm 处有吸收峰, 检测时应该使 OD<sub>260</sub> 值在 0.1~1.0, 此时数值较准确, OD<sub>260</sub> 为 1 时大概相当于 50 $\mu$ g/ml 双链 DNA, 40 $\mu$ g/ml 单链 DNA。

核酸浓度 ( $\mu$ g/ml) = OD<sub>260</sub> × 50 × 稀释倍数。

OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 的值应该为 1.7~2.0。

### 常见问题分析:

常见问题	可能原因	建议
DNA 产量低 或没有 DNA	Wash buffer A、Wash buffer B 没有加无水乙醇	按说明书加入无水乙醇
	洗脱效率低	洗脱液使用前于 55-65 $^{\circ}$ C 预热; 洗脱液 pH 值不合适, 应保证在 7.5~8.5
	样品过量	按照说明书说明加样, 或者按照试剂比例增加试剂量
	样品裂解不完全	适当延长裂解时间, 可过夜消化
	样品不够新鲜	尽量使用新鲜样品
DNA 纯度低	消化不完全	样品量不要超过规定范围; 延长消化时间, 使样品充分消化
	洗涤不当	严格按照说明书步骤洗脱
	乙醇未除干净	适当延长晾干时间, 使乙醇充分挥发。