



## 新型植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

产品编号: NEP023-1

产品规格: 50T

### 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, 蛋白等被释放出来, 在一定的条件下, 沉淀去除蛋白等杂质。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            | 50 次        | 注意事项                  |
|---------------|-------------|-----------------------|
| $\beta$ -巯基乙醇 | 130 $\mu$ l |                       |
| 溶液 A          | 25 ml       | 室温低时可能有沉淀, 50℃加热溶解    |
| 溶液 B          | 22 ml       |                       |
| 溶液 C          | 13 ml       | 用前加入 52 ml 无水乙醇, 充分混匀 |
| 溶液 D          | 10 ml       |                       |

### 实验前试剂准备

溶液 C 中加入 52 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. 在 1.5 ml 离心管中加入 450  $\mu$ l 的溶液 A, 然后加入  $\beta$ -巯基乙醇至终浓度为 0.5%。
2. 取植物新鲜组织 50 mg 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 50 mg (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 提取量减少且纯度低。
3. 将研磨好的粉末加到以上预备好的溶液 A 中, 65℃水浴 20~30 min, 其间颠倒混匀样品数次。  
**若需要去除 RNA, 水浴完后, 加入 10  $\mu$ l RNase, 混匀, 室温静置 5~10min。**
4. 加入 400  $\mu$ l 溶液 B, 充分混匀, 12,000 rpm 离心 5 min。  
**若样品蛋白等含量非常高, 可使用 500 $\mu$ l 氯仿再抽提一次。**
5. 小心将上清转到一个新的离心管中 (**勿将沉淀吸入, 若不小心吸到, 可再次离心去除沉淀**), 加入 600  $\mu$ l 异丙醇, 充分混匀, 室温放置 10min。
6. 12,000 rpm 离心 10 min, 小心去上清 (**勿将含 DNA 样品的沉淀倒出**)。
7. 加入 600  $\mu$ l 溶液 C, 颠倒混匀两次, 12,000 rpm 离心 5 min, 弃废液 (**勿将含 DNA 样品的沉淀倒出**)。
8. 重复步骤 7 一次。
9. 于室温或 37℃敞盖放置 5~10 min, 至无明显乙醇味。



10. 加入 30-200  $\mu\text{l}$  溶液 D，离心管中即为基因组 DNA 溶液。

#### 纯化效果检测：

取 2-5 $\mu\text{l}$  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  $\text{OD}_{260}$  值在 0.1~1.0，此时数值较准确， $\text{OD}_{260}$  为 1 时大概相当于 50 $\mu\text{g/ml}$  双链 DNA，40 $\mu\text{g/ml}$  单链 DNA。

核酸浓度 ( $\mu\text{g/ml}$ ) =  $\text{OD}_{260} \times 50 \times \text{稀释倍数}$ 。

$\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$  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<br>或没有 DNA | 溶液 C 没有加无水乙醇           | 按说明书加入无水乙醇                 |
|                    | 去除上清时不小心将含 DNA 样品的沉淀倒出 | 去上清时要小心仔细，勿将沉淀倒出           |
|                    | 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                   |
|                    | 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 |
|                    | 取上清时，将沉淀引入             | 取上清时要小心，若不小心引入沉淀，可再离心一次去除  |
|                    | 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。          |