

# 植物基因组 DNA 提取试剂盒

产品编号：DN32

## 使用手册

Ver:240522

无需 RNase 消化，特异性捕获 DNA

适用范围广，有效去除多糖多酚，优秀的纯度和产量

◇产品编号：DN32

◇常温运输、保存（15-25°C）

◇本产品仅供科研使用

成都百菲特科技有限公司

## 一、产品概述：

本试剂盒适用于从多种植物组织中提取基因组 DNA，针对大多数植物样本可以实现特异性捕获 DNA，无需单独的 RNase 消化步骤，操作流程简便快捷，特别适合富含多糖多酚、高淀粉含量、高蛋白含量、高油脂含量、水果、浆果、种子、花粉等类型的样本。

目前已成功用于小麦、水稻、玉米、红薯、紫薯、马铃薯、石斛、菠萝叶、油菜籽、麻风树、小麦种子、花生种子、水稻花粉、藻类等植物样本的 DNA 提取。

## 二、规格及组成：

组 分	DN32-50 (50preps)	DN32-100 (100preps)
溶液 A	50 ml	50 ml × 2
溶液 B	15 ml	15 ml × 2
溶液 C	40 ml	40 ml × 2
漂洗液	50 ml	50 ml × 2
DNA 洗脱液	10 ml	10 ml
DNA 吸附柱	50 个	100 个
使用手册	1 份	1 份
自备试剂	氯仿或二氯甲烷	

## 三、注意事项：

1. 使用前请检查溶液 A 中是否有溶质析出。溶液 A 在低温环境下长时间存放，可能会出现浑浊或有固体物质析出。若出现上述现象，需将溶液 A 在 50-60°C 水浴中加热至少 10min，使固体析出物彻底溶解，溶液恢复澄清，充分摇匀后才能使用，否则容易引起 DNA 提取结果异常。
2. 溶液 A、B、C 含有刺激性化合物，建议操作时戴乳胶手套、口罩及护目镜，避免沾染皮肤和衣服。若不慎沾染皮肤、眼睛时，用大量清水或生理盐水冲洗，必要时及时就医。
3. 为确保离心参数一致，本手册使用相对离心力来确定离心机的转数，如“室温，12,000×g 离心 5min”表示在当前温度下离心 5min，离心机在对应转速下产生的相对离心力约为 12,000 倍地球引力。通常在离心机上被标识为“RCF”（Eppendorf）或“×g”(Thermo)。

#### 四、使用方法：



注意：溶液A在使用前请加入β-巯基乙醇，1ml溶液A中加入20 μl β-巯基乙醇，混匀后使用。加入β-巯基乙醇的溶液A室温下可保存3个月。

1. 取40-100mg植物样本，根据单次提取的样本数量，参考下列三种研磨方法来破碎样本：

##### ▲液氮机器研磨：

取适量新鲜叶片剪成5-10mm的碎片后，转入2ml研磨管，加入直径3-5mm的钢珠或其它研磨珠，关闭盖子后在液氮中冷冻1-3min，然后迅速转移到[组织研磨仪](#)进行破碎。破碎后的样本呈粉末状，温度较低时呈较浅的绿色，此时立即加入1ml溶液A，立刻涡旋振荡混匀，样本和溶液A充分混匀后才能在室温下暂存，否则容易导致DNA降解。

##### ▲液氮手工研磨：

在研钵中倒入液氮，加入适量的植物组织样本，在液氮浸泡下迅速将样本研磨成细粉，待液氮刚好完全蒸发时，迅速将样品粉末转入液氮预冷的2ml离心管中，粉末体积建议不超过250ul刻度，然后及时加入1ml溶液A并立即振荡混匀。在转移粉末时应注意控制时间，或及时补充少量液氮，防止样本升温导致DNA降解。

##### ▲常温手工研磨：

取适量新鲜植物组织剪成小块放入研钵，加入1ml溶液A，用研钵在室温下将样本研磨成细粉，研磨时必须让样本被溶液A充分浸润，以抑制DNA酶活性。研磨结束后，用1ml移液器将全部液体连同磨碎后的样本转入2ml离心管。



注意：a. 由于液氮冷冻后的样本温度非常低，加入裂解液后，粉末和液体的接触面可能会出现结冰的现象，不利于样本的混匀，需要用涡旋振荡仪振荡至样本完全分散在裂解液中，否则部分样本在未接触裂解液的情况下解冻，可能会引起DNA降解。

b. 样本在破碎后如果不及时加入裂解液，样本粉末会在室温下迅速升温，颜色也会从浅绿色变成深绿色，此时样本中的RNA酶会逐渐恢复活性，容易发生DNA降解。

c. 如果样本数量较多，研磨成粉的样本可以连同研磨管一起平放在干冰上暂存。如果需要将研磨好的样本再放回液氮中暂存，需要避免将研磨管长时间浸没在液氮中，否则液氮可能从盖子缝隙处渗入管内，当从液氮中取出研磨管，并在室温下添加裂解液时，研磨管中残余的液氮会因为受热而快速汽化膨胀，极易引起研磨管炸裂，若经常出现这种情况，需要使用密封性更好的研磨管，并避免研磨管长时间浸没到液面以下。

2. 当样本和溶液A完全混匀后，在65°C水浴加热10-20min，让溶液A中的组分完全恢复溶解状态。

注意：样本和溶液A的混合物可以在室温下暂存24小时，不会影响DNA提取的产量和纯度。

3. 短暂离心5-10秒，将附着在管盖上的液体离心到研磨管底部，以便下一步加入溶液。

4. 在研磨管中加入300μl溶液B和200μl氯仿（或二氯甲烷），在振荡器上振荡30秒混匀，此时溶液呈均匀的乳浊状。振荡器振荡时必须使试管中的溶液充分乳化。



注意：溶液B主要成分为酚，静置后溶液会分为上层水相和下层有机相，请取用下层有机相。上层水相，主要用于储存时抑制酚的氧化；下层有机相为酚。溶液B在剧烈晃动后会呈现乳浊状，静置

15-20min后溶液即可重新分层。

5. 室温，12,000×g 离心3-5min，沉淀细胞碎片和杂质，以便分离出清澈透明的上清液。

正常现象：

a.离心结束后，两相间会有2-5mm厚的细胞破碎物，与上清液分界明显，在吸取上清时不会有固体杂质被同时吸走。

6. 转移750-900μl上清液到干净的2ml离心管中，避免吸入中间层的杂质。

7. 加入等体积的溶液C，充分颠倒混匀。

8. 将上述混合物(每次最多700μl，请分多次进行离心)加入到一个DNA吸附柱中，室温，12,000×g 离心1min，弃掉收集管中的废液。

9. 加入500μl漂洗液，室温12,000×g 离心1min，弃滤液。加入500μl漂洗液，再漂洗一次。

10. 将DNA吸附柱放回到空的收集管中，室温，12,000×g 离心2min。

 注意：此步非常重要，否则残留的乙醇会影响DNA的使用。

11. 将DNA吸附柱放入一个DNase-free 离心管中，直接在吸附膜的中间部位加50-100μl DNA洗脱液(1×TE,pH7.5)，室温放置3-5min。

12. 室温，12,000×g 离心2min。离心管中溶液即为DNA样品，可以立即使用或存放于-20℃待用。

产品咨询: 18040311981

公司 QQ: 24111785

公司微信: 右侧二维码

成都百菲特科技有限公司

<http://www.biofit.com.cn>

