

版本号: DP140110

# N96 Plant Genomic DNA Kit

## N96植物基因组DNA提取试剂盒

(离心板型)

目录号: DP338

### 产品内容

产品组成	DP338 (2 plates)
缓冲液GP1 (Buffer GP1)	160 ml
缓冲液GP2 (Buffer GP2)	160 ml
缓冲液GD (Buffer GD)	52 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	50 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	60 ml
96孔吸附板CB3 (N96 Plate CB3 (H))	2块
96孔深孔板 (N96 Well Plate)	6块
封口膜(Plate Cover)	12张

### 储存条件

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下可保存12个月；更长时间的保存可置于2-8℃。在2-8℃保存条件下，若产生沉淀，使用前应先将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在37℃水浴中预热10 min，以溶解沉淀。

---

## 产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附板和独特的缓冲液系统，用于提取植物细胞中的基因组DNA。离心吸附板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 $\mu$ g

注：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：**1 h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、提取量也下降。
  2. 若缓冲液GP1和GP2中有沉淀，可在37°C水浴中重新溶解，并摇匀后使用。
  3. 所有的离心步骤均为使用台式离心机在室温下进行。
-

---

## 操作步骤

使用前请先在缓冲液GD和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取植物新鲜组织约100 mg或干重组织约30 mg，加入液氮充分研磨。
2. 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有700  $\mu$ l 65 $^{\circ}$ C预热缓冲液GP1的离心管中（实验前在预热的GP1中加入巯基乙醇，使其终浓度为0.1%），迅速颠倒混匀后，将离心管放在65 $^{\circ}$ C水浴20 min，水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。
3. 加入700  $\mu$ l氯仿，充分混匀，12,000 rpm (~13,400  $\times$  g) 离心5 min。

**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层水相转入一个96孔深孔板中，加入700  $\mu$ l缓冲液GP2，充分混匀。
5. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个96孔吸附板CB3中（吸附板已放置在96孔深孔板上），3600 rpm(~2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液，吸附板CB3重新放回96孔深孔板。
6. 向96孔吸附板CB3中加入600  $\mu$ l 漂洗液GD（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），3600 rpm(~2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液，将96孔吸附板CB3重新放回96孔深孔板。
7. 向吸附板CB3中加入600  $\mu$ l 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），3600 rpm(~2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液，将96孔吸附板CB3重新放回96孔深孔板。
8. 向吸附板CB3中加入600  $\mu$ l 漂洗液PW，3600 rpm(~2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液。

**注意：**如果吸附板膜呈现绿色，向吸附板CB3中加入500  $\mu$ l 无水乙醇，3600 rpm (~2,130  $\times$  g) 离心5 min，倒掉废液，将吸附板CB3放回96孔深孔板。

9. 将96孔吸附板CB3放回96孔深孔板中，3600 rpm(~2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液。将96孔吸附板CB3置于室温放置数分钟，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96孔吸附板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96孔吸附板CB3转入一个干净的96孔深孔板中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200  $\mu\text{l}$  洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，3600 rpm( $\sim 2,130 \times g$ )离心8 min，将溶液收集到96孔深孔板中。

**注意：**洗脱缓冲液体积不应少于50  $\mu\text{l}$ ，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 $\text{ddH}_2\text{O}$ 做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在 $-20^\circ\text{C}$ ，以防DNA降解。为增加基因组DNA的得率，可将收集得到的溶液再加入吸附板CB3中，室温放置2 min，3,600 rpm ( $\sim 2,130 \times g$ )离心5-8 min。

## 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 $\text{OD}_{260}$ 处有显著吸收峰， $\text{OD}_{260}$ 值为1相当于大约50  $\mu\text{g/ml}$ 双链DNA、40  $\mu\text{g/ml}$ 单链DNA。

$\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用 $\text{ddH}_2\text{O}$ ，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。

---