

For research use only

Version Number: 2.1

Plant DNA Isolation Kit

For genomic DNA purification from various plant tissue

试剂盒组成	DE-06111
	50 T
Buffer PL1	30 ml
Buffer PL2 *	30 ml
Buffer PW *	25 ml
Buffer WB	25 ml
Buffer EB	10 ml
Foregene Protease	1 ml
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

*: Buffer PL2、Buffer PW 中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的 DNA-Only Column、全新的 Foregene Protease 以及独特的缓冲体系，大大简化了植物基因组 DNA 提取步骤，在 30 分钟内可获得高纯度基因组 DNA，极大程度上避免了基因组 DNA 的降解。

离心柱中的 DNA-Only 硅胶膜可高效、特异吸附 DNA，无需添加任何有机试剂即可最大限度的去除 RNA、杂质蛋白、离子及多糖、多酚等有机化合物。获得的 DNA 片段大，纯度高、质量稳定可靠。

储存条件

- ❖ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。
- ❖ Foregene Protease 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

注意事项：(请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项)

- ❖ 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会下降。
- ❖ 新鲜植物叶片或组织的用量不要超过 100 mg，干燥植物组织用量不要超过 30mg，否则会影响 DNA 产量和纯度。
- ❖ 使用前，仔细检查 Buffer PL1、Buffer PL2 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ❖ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB 在使用前添加 60 ml 无水乙醇(DE-06111)。
- ❖ 洗脱体积：Buffer EB 不应少于 100 μ l，否则会影响 DNA 产量。
- ❖ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ❖ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ❖ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

材料取用说明

- ❖ 新鲜叶片或组织 100 mg。
- ❖ 干燥叶片或组织 30 mg。

操作步骤

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取 600 μ L Buffer PL1 加入 2ml 离心管中，加入 20 μ L Foregene Protease, 2 μ L β -巯基乙醇(需自备)，混匀后置于 65°C 金属浴或水浴中预热。

2. 取适量新鲜植物叶片或组织、干燥组织，尽量剪碎，置于预冷的研钵中，加入液氮充分研磨。
3. 迅速称取 **100 mg** 研磨好的新鲜植物叶片或组织粉末、或 **30 mg** 干燥组织粉末，转移至 65°C 预热好的 Buffer PL1 中。迅速颠倒混匀后，将离心管放在 65°C 金属浴或水浴中 10 min，每间隔 5 min 颠倒混匀一次。

注意：研磨完成后，样本粉末立即转移，否则基因组 DNA 会快速降解。

4. 加入 **600 μL Buffer PL2**，充分混匀，放回 65°C 金属浴或水浴 10 min。
5. 12,000 rpm (~13,400×g) 离心 5 min。
6. 使用微量移液器将上清液转移到一新离心管中。

注意：尽量不要吸到沉淀，如果所吸取的上清中存在较多固体杂质，可重复步骤 5、6 一次。

7. 加入 **180 μL 乙醇** (96-100%)，充分涡旋混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
8. 将离心柱放入收集管中，取 800 μL 混合液加入离心柱 (DNA-Only Column) 中，12,000 rpm (~13,400 ×g)，离心 30 sec，弃掉收集管中废液。
9. 将离心柱放回收集管中，将剩余混合液全部加入离心柱中，12,000 rpm (~13,400 ×g)，离心 30 sec，弃掉收集管中的废液。
10. 向离心柱中加入 **500 μL Buffer PW**，12,000 rpm (~13,400 ×g) 离心 30 sec，弃掉收集管中的废液。
11. 向离心柱中加入 **700 μL Buffer WB** (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (~13,400 ×g) 离心 30 sec，弃掉收集管中的废液。
12. 重复步骤 11 一次。
13. 将离心柱放回收集管中，12,000 rpm (~13,400 ×g) 空管离心 2 min。
14. 将离心柱转移至新的 1.5 mL 离心管中，向膜中央悬空滴加 **100 μL** 已于 65°C 预热的 **Buffer EB** (切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 2 min，12,000 rpm (~13,400 ×g) 离心 1 min。再次向胶膜中央悬空滴加 **100 μL** 已预热的 **Buffer EB**，12,000 rpm (~13,400 ×g) 离心 1 min。将两次收集的洗脱液汇集。

注意：如果希望提高 DNA 的浓度，可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中，12,000 rpm (~13,400 ×g) 离心 1 min。

