



## Plant Genomic DNA Extraction Kit (Spin Column)

### 植物基因组快速提取试剂盒(离心柱)

## 说明书

#### 【产品简介】

本试剂盒的抽提试剂采用独特的配方和添加剂，能高效的裂解植物组织，分离出高纯度的基因组DNA，还可以有效地抑制各种外源性和内源性的核酸酶，同时结合特制的纯化柱，能最大限度的保持核酸的完整性、高得率以及纯度。

#### 【试剂盒组成】

试剂盒组成	LG-0103A (50 次)	LG-0103B (100 次)
RNase A	500 $\mu$ l	1 ml
裂解液 PLB	36 ml	72ml
漂洗液 WB1	15 ml	30 ml
漂洗液 WB2	12 ml	24 ml
洗脱液 EB	2x2ml	8 ml
离心纯化柱	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

**注意：**使用前请在按照标签提示漂洗液 WB1、WB2 中加入适量无水乙醇。如不立即使用，RNase 置于 4℃ 保存。

#### 【操作步骤】

1. 取适量植物组织(50-100mg)用电子天平称量，放入液氮中研磨至粉末状。然后立即将该组织转移至加有 65℃ 预热 600 $\mu$ l 裂解液 PLB 的无核酸酶的离心管中，如仍有块状物质，用电动匀浆机在冰浴中匀浆组织约 15s 直到看不见明显的组织块。65℃ 水浴 30min，每隔 10 min 上下轻轻颠倒混匀。

**注意 1：**对于含有纤维及多糖成分比较多的组织，先在裂解液体 PLB 中加入终浓度为 0.1% 的  $\beta$ -巯基乙醇；

**2：**植物新嫩芽叶片建议取材 50mg，对于含水份较高果实类新鲜组织 100 mg。植物的种类多样，具体取材还需要根据样本实际情况合理选择材料用量。

2. 往裂解物中加入 10 $\mu$ l RNase A，用移液器吸打混匀，37℃ 放置 10 min。
3. 冷却至室温后，加入 500 $\mu$ l 三氯甲烷，充分混匀离心管直至混匀，切勿漩涡震荡。10,000 rpm 离心 5min。
4. 小心吸取上清至另一干净的无核酸酶的离心管中，加入 0.6 倍上清体积的预冷异丙醇，轻柔颠倒数次直至彻底混匀。
5. 吸取 700 $\mu$ l 裂解物以及有可能形成的沉淀至纯化柱，室温 11,000rpm 离心 15s。
6. 弃尽流穿液，重复步骤 6，直至将剩余样品全部通过纯化柱。
7. 往纯化柱内加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB1，室温 11,000rpm 离心 15s，弃尽流穿液。

**注意：**第一次使用前，按照标签提示加入适量无水乙醇。

8. 往纯化柱内加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB2，重复步骤 8。

**注意：**第一次使用前，按照标签提示加入适量无水乙醇。

9. 室温 11,000rpm 离心空柱 1min 干燥硅胶膜。
10. 往膜中央滴加 50 $\mu$ l 65℃ 预热的洗脱液 EB，室温放置 5min，室温 11,000rpm 离心 1min，收集 DNA。
11. 重复步骤 11。

**注意：**为增加基因组 DNA 的得率，洗脱液体积不应少于 50 $\mu$ l，体积过小会影响回收效率，洗脱液的 pH 值也对洗脱效率有很大影响，若用 ddH<sub>2</sub>O 洗脱液应保证 pH 7.0-8.5 范围内，pH 低于 7.0 会影响洗脱效率；DNA 需置于 -20℃ 保存，以防止 DNA 降解。



### 【DNA定量】

**实例：用常规比色皿测量RNA浓度。**

DNA样品总体积：50 $\mu$ l

稀释因子，1:100（10 $\mu$ l DNA样品+990 $\mu$ l无核酸酶高压灭菌水）

A260读值：0.20（在1ml比色皿中测量）

因此，DNA样品浓度=50 $\times$ A260 $\times$ 稀释因子=50 $\times$ 0.20 $\times$ 100=1000 $\mu$ g/ml

DNA样品的得率=1000 $\times$ 0.05=50 $\mu$ g

**实例：用超微量比色皿测量DNA浓度。**

DNA样品总体积：50 $\mu$ l

稀释因子，1:100（1 $\mu$ l DNA样品+99 $\mu$ l无核酸酶高压灭菌水）

A260读值：0.20（在超微量比色皿中测量）

因此，DNA样品浓度=50 $\times$ A260 $\times$ 稀释因子=50 $\times$ 0.20 $\times$ 100=1000 $\mu$ g/ml

DNA样品的得率=1000 $\times$ 0.05=50 $\mu$ g

### 【注意事项】

1. 操作时请使用一次性手套和口罩。
2. 第一次使用前请确认是否已经往漂洗液WB中加入适量乙醇。
3. 为增加裂解效果，可在裂解液PLB中加入终浓度为0.1%的巯基乙醇，但加入巯基乙醇后，会降低裂解液PLB的稳定性，推荐现用现加。

### 【保存条件及有效期】

本试剂盒置于室温（15-25 $^{\circ}$ C）可保存12个月；更长时间的保存可置于2-8 $^{\circ}$ C。在2-8 $^{\circ}$ C保存条件下，若溶液产生沉淀，应在使用前置于37 $^{\circ}$ C下溶解沉淀。加入 $\beta$ -巯基乙醇的裂解液PLB 2-8 $^{\circ}$ C可保存一个月，其余组分可保存在室温。

**注：**本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。