



ELK Biotechnology
For research use only.

DNAsure Plant Kit

新型植物基因组 DNA 提取试剂盒

货号	规格	储藏/有效期
EP010-50T	50T	室温/一年
EP010-200T	200T	室温/一年

产品介绍

本试剂盒采用独特的缓冲液系统，特别适合从新鲜植物材料中提取基因组 DNA。使用安全方便，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物，本产品不含有苯酚氯仿等有害化学成分，对试验人员更安全！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。

试剂盒组成

成分	EP010-50T	EP010-200T	Storage
Buffer PGE	35 ml	140 ml	RT
Wash Buffer	60 ml	240 ml	RT
Solution RP	30 ml	120 ml	RT
Elution Buffer	2.5 ml	10 ml	RT
RNase A	315 μ l	1.25ml	-20 $^{\circ}$ C
吸附柱	50 套	200 套	RT
说明书	1 份	1 份	RT

一、使用前准备

1. 若溶液产生沉淀，使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间，必要时可在 56 $^{\circ}$ C 水浴中预热 10 min，以溶解沉淀。
2. 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下降。
3. Buffer PGE 可能会发黄，并不影响提取效果。
4. Buffer PGE 有沉淀析出，可在 37 $^{\circ}$ C 水浴溶解，摇匀后使用。



ELK Biotechnology

For research use only.

5. 所有离心步骤均为使用台式离心机，**室温**下离心。
6. 客户自备： **β -巯基乙醇**。

二、操作步骤

以下操作步骤为处理 **100 mg** 新鲜绿色植物叶片等组织，如处理更多量组织，可等比例放大不同溶液的用量。

1. 材料处理：取植物新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg，加入液氮充分碾磨。加入 600 μ l **Solution PGE** 和 6 μ l 的 **RNaseA** 以及终浓度为 2% 的 **β -巯基乙醇**（需额外购买，也可以不加入），旋涡振荡 1 min，60°C水浴放置 20 min。

注意：由于植物材料多样性非常丰富，所取实验材料的最适量需根据材料的不同而进行选择处理方式，对于常见拟南芥之类的幼嫩植物组织，可以直接用移液器枪头捣碎即可。而其他老旧组织建议使用液氮研磨。

2. 12,000 rpm (~13,400×g)高速离心 10 min，小心的将上清转移至新的离心管中。
3. **可选步骤（当溶液中仍然含有肉眼可见的绿色碎片时强烈建议重复此步骤）**：将上清液再次 12,000 rpm (~13,400×g)离心 5 min，将上清转移至新的离心管中。

注意：此步骤目的为去除上清液中的沉淀杂质，使提取基因组 **DNA** 纯度更高。

4. 向上清液中加入 0.3 倍体积的异丙醇，充分混匀，将上清转移到吸附柱中（若一次不能完全转移完，可分次转入），10,000 rpm (~10,000×g) 离心 1 min，弃收集柱中的废液。
5. 加入 500 μ l Solution RP 到吸附柱中，套上收集柱，使劲甩两下，让 Solution RP 浸润到吸附膜，以彻底洗涤残留蛋白多糖等残留（此步骤后可能仍有绿色残留，可酌情再洗涤一到两次，少量残留并不影响后续 PCR 等试验）。10,000 rpm (~10,000×g) 离心 1 min，弃收集柱中的废液。
6. 加入 600 μ l Wash Buffer 到吸附柱中，10,000 rpm (~10,000×g) 离心 1 min，弃收集柱中的废液。
7. 重复步骤 6。
8. 10,000 rpm (~10,000×g) 离心 2 min，彻底甩干残余的乙醇，弃收集柱中的废液。
9. 取 1 只新的 EP 管，将吸附柱套入管上，开盖，室温 5-10 min，彻底晾干残余的乙醇。
注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、**PCR** 等）实验。
10. 加入 30-50 μ l Elution Buffer 到吸附柱正中心溶解沉淀。

注意：使用 65 °C Elution Buffer 溶解 DNA，可以增加最终得到 DNA 溶液含量。



ELK Biotechnology
For research use only.

三、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 OD260 处有显著吸收峰，OD260 值为 1 相当于大约 50 $\mu\text{g/ml}$ 双链 DNA、40 $\mu\text{g/ml}$ 单链 DNA。OD260/OD280 比值应为 1.7–1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，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。

四、 注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 若 Solution PGE 中有沉淀，可在 56 °C 水浴中重新溶解，摇匀后使用。
3. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。

五、 常见问题及解答

1、没有提出基因组或者基因组浓度很低

A、堵柱子：

建议：尽量使用新鲜、幼嫩的植物样本。用 Solution RP 多次清洗(多次清洗会造成基因组回收率低)。有时候堵柱子并不一定影响基因组得率，此时可以考虑忽略。

B、基因组提取得率低：

建议：部分植物组织中所含基因组并不多，跑胶浓度低属于正常现象，若后续需求量较大，可多次提取后浓缩使用。

C、Wash Solution 中未按要求加入乙醇

建议：按照说明书要求加入要求量的无水乙醇，使用后旋紧瓶盖，防止乙醇挥发。

D、溶解体积及时间的选择

建议：溶解体积将会影响最终的收获量，溶解体积越大，收获量越高，但是浓度将会降低。请使用试剂盒推荐的溶解体积进行溶解，以保证最好的收获量和浓度。加入 Elution Buffer 后，室温放置 2~5 min，更有利于溶解。