



# Plant Genomic DNA Kit

## 植物基因组DNA提取试剂盒

目录号：CW0553S (50 preps)  
CW0553M (200 preps)

保存条件：室温 (15-30°C)

### 产品内容

Component	CW0553S CW0553M	
	50 preps	200 preps
Buffer GP1	40 ml	160 ml
Buffer GP2	40 ml	160 ml
Buffer GW1 (concentrate)	13 ml	52 ml
Buffer GW2 (concentrate)	15 ml	50 ml
Buffer GE	15 ml	60 ml
Spin Columns DM with Collection Tubes	50	200

## 产品简介

本试剂盒适用于从植物组织和植物干粉中提取总DNA，包括基因组DNA，线粒体DNA及叶绿体DNA。本品可以处理多至100 mg的样本，可纯化获得最大为50 kb的DNA，多数片段在20-30 kb之间。本试剂盒采用先进的硅胶膜技术和简单的离心程序，无需乙醇沉淀，简单快速地分离得到高纯度的DNA，有效去除PCR和其他酶促反应的抑制剂。本品可以在1小时内完成总DNA的提取，纯化得到的DNA可以直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

**自备试剂：**β-巯基乙醇、氯仿、无水乙醇。

## 注意事项

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
2. Buffer GP1在使用前请加入β-巯基乙醇，1 ml Buffer GP1加1 μl β-巯基乙醇。加入β-巯基乙醇的Buffer GP1室温可保存1个月。
3. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在Buffer GW1和Buffer GW2中加入无水乙醇。
4. 使用前请检查Buffer GP1和Buffer GP2是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer GP1和Buffer GP2于65℃水浴重新溶解。
5. 如果下游实验对RNA污染比较敏感，可以在加入Buffer GP1孵育后，加入4 μl DNase-Free的RNase A（100 mg/ml），RNase A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购，货号：CW0601S。

## 操作步骤

1. 取植物新鲜组织约**100 mg**或干重组织约**20 mg**，加入液氮充分研磨。
2. 将研磨后的粉末收集到离心管（自备）中，加入**700  $\mu$ l 65 $^{\circ}$ C预热的Buffer GP1（使用前在预热的Buffer GP1中加入 $\beta$ -巯基乙醇，使其终浓度为0.1%）**，迅速颠倒混匀后，将离心管置于65 $^{\circ}$ C水浴20分钟，水浴过程中颠倒离心管混匀样品数次。  
**注意：如需去除RNA，可在上述步骤完成后，加入4  $\mu$ l浓度为100 mg/ml 的RNase A溶液（货号：CW0601S），震荡混匀，室温放置5-10分钟。**
3. 加入**700  $\mu$ l 氯仿**，充分混匀，12,000 rpm（ $\sim$ 13,400 $\times$ g）离心5分钟。
4. 小心将上层水相转入一新的离心管（自备）中，加入**700  $\mu$ l Buffer GP2**，充分混匀。
5. 将步骤4中所得溶液全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns DM）中。若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入**500  $\mu$ l Buffer GW1**（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
7. 向吸附柱中加入**500  $\mu$ l Buffer GW2**（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。  
**注意：如需进一步提高DNA纯度，可重复步骤7。**
8. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。  
**注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR等）。**
9. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空加入**50-100  $\mu$ l Buffer GE或灭菌水**，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液，-20 $^{\circ}$ C保存DNA。  
**注意：1）如果下游实验对pH值或EDTA敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的pH值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5（可以用NaOH将水的pH值调到此范围），pH值低于7.0时洗脱效率不高。**

2) 离心之前室温孵育5分钟可以增加产量。

3) 用另外的50-100  $\mu\text{l}$  Buffer GE或灭菌水再次洗脱可以增加产量。

4) 如果要提高DNA的终浓度，可以将步骤9所得的DNA洗脱液重新加至吸附膜上，重复步骤9；若洗脱体积小于100  $\mu\text{l}$ ，可以增加DNA的终浓度，但可能会减少总产量。如果DNA的量小于1  $\mu\text{g}$ ，推荐用50  $\mu\text{l}$  Buffer GE或灭菌水洗脱。

5) 因为保存在水中的DNA会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用Buffer GE洗脱并于 $-20^{\circ}\text{C}$ 保存。

本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其它用途