

植物基因组 DNA 分离试剂盒简明说明书(BW-GD2611)

产品简介

本试剂盒为从各种植物组织提取高质量 gDNA 提供了一种快速、简便的方法。该试剂盒采用独特的缓冲系统和结合基质，使得核酸高效、特异结合到硅胶膜上。可在 1 小时内处理至多 100 mg 的新鲜组织（或 50 mg 的干燥组织）。

纯化得到的 DNA 可直接用于下游分子实验，如 PCR、Southern hybridization 和限制性酶切。整个提取过程不需要酚氯仿，可一次性处理多个样品。

产品构成

Catalog#	-00	-01	-02
Preps	4	50	250
DNA Mini Columns	4	50	250
2 mL Collection Tubes	4	50	250
Buffer P1	4 mL	50 mL	250 mL
Buffer P2	1 mL	8 mL	40 mL
Buffer P3	2 mL	20 mL	100 mL
DNA Wash Buffer*	2 mL	15 mL	3 x 24 mL
Elution Buffer	1 mL	8 mL	40 mL
RNase A (20 mg/mL)	25 µL	270 µL	1.4 mL
User Manual	1	1	1

要点

- DNA Wash Buffer: 加入 8 mL (BW-GD2611-00) 或 60 mL (BW-GD2611-01) 或 96 mL (BW-GD2611-02) 96-100%乙

醇至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。

产品贮存及稳定性

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月，请按以下方式储存：

RNase A 可在室温稳定储存 12 个月。长期储存请将 RNase A 存放于 4°C，其他试剂及用品可保存于室温（15-25°C）。

注意事项

- Buffer P1 和 P2 在低温条件下易形成沉淀，使用前置于 65°C 预热溶解沉淀。

实验前需准备的材料

- 离心机
- 无菌的 1.5 mL 或 2.0 mL 离心管
- 水浴锅
- 无水乙醇

操作步骤

本操作步骤适用于 100 mg 以内新鲜植物组织或 50 mg 以内干燥植物组织。实验前，请将 Elution Buffer 预热至 65°C。

1. A: 新鲜组织

取小于 100 mg 的新鲜组织，置于研钵内，加入 **900 µL Buffer P1**，室温研磨，直至没有肉眼可见的颗粒。

B: 干燥组织

取小于 50 mg 的新鲜组织，置于研钵内，加入 **950 µL Buffer P1**，室温研磨，直至没有肉眼可见的颗粒（若干燥组织很难研磨，可将其置于缓冲液中 10-20 min 再处理）。

2. 研磨完成后，转移样品至一个 2 mL 离心管，快速涡旋，置于 65°C 水浴 10 min（干燥组织可能需要延长孵育时间）。

可选：若需要除去 RNA，可加入 **5 µL RNase A**。

3. 加入 **140 µL Buffer P2**，涡旋 10 s 以混匀，12,000 ×g 离心 10 min。

4. 小心转移上清液至一个新的 2 mL 离心管，避免吸到沉淀，加入 **0.5 倍体积的 Buffer P3** 和 0.5 倍体积的无水乙醇，涡旋 10 s 以混匀。

5. 将一个 **DNA Mini Column** 插入至一个 **2 mL Collection Tube**，将全部混合液加入至 **DNA Mini Column**，12,000 ×g 离心 30 s，弃滤液，将柱子放回收集管上。

6. 加入 **600 µL DNA Wash Buffer**，12,000 ×g 离心 30 s，弃滤液。

7. 加入 **600 µL DNA Wash Buffer**，12,000 ×g 离心 30 s，弃滤液。

8. 打开柱盖，12,000 ×g 离心 2 min。

注：该步骤对于残留乙醇（将会影响到下游实验）的去除非常必要。

9. 将 **DNA Mini Column** 置于一个干净的 1.5 mL 离心管，加入 **100-150 µL** 预热至 65°C 的 **Elution Buffer**，12,000 ×g 离心 1 min 洗脱 DNA。

可选：将洗脱下来的 DNA 二次上柱将会得到另外 20-30% 的 DNA，通常第一次洗脱可得到 60-70% 的 DNA。

得率和质量的确定

总 DNA 的产量可通过分光光度计测定，使用 ddH₂O、Tris-HCl 或 Elution Buffer 作为空白对照，用 TE buffer 将 DNA 稀释，使用如下方式计算浓度：

$$[\text{DNA}] = (A_{260}) \times (0.05 \mu\text{g}/\mu\text{L}) \times (\text{稀释倍数})$$

DNA 的质量可以通过在 260 nm 和 280 nm 处的吸光值确定。

A₂₆₀/A₂₈₀ 值在 1.7-1.9 说明 DNA 纯度在 85-95%。

常见问题解答

问题	可能原因	建议
柱子堵塞	残留碎片	确保没有转移沉淀。
	样品太粘稠	起始样品量不要超过建议用量。可以增加 Buffer P1 和 P2 的量，每个样品使用 2 个及以上的柱子。
低 DNA 得率	起始样品没有完全破坏	对于干燥和新鲜样品，加入 Buffer P1 前一定要充分均质化。
	组织裂解不充分	减少初始样品使用量或增加 Buffer P1 和 P2、P3 的量。
	DNA 残留在柱子上	增加洗脱体积至 200 μL，离心前 65°C 孵育 5 min。
	DNA 漂洗不当	DNA Wash Buffer 使用前按要求加入乙醇。
下游实验有问题	盐离子污染	DNA Wash Buffer 须在室温保存。
	乙醇残留	DNA 漂洗两次后，确保最大转速空离 2 min 干燥。

杭州倍沃医学科技有限公司

BIOMIGA (中国)

www.beiwobiomedical.com

400-115-2855

sales@beiwobiomedical.com