

# 植物DNA提取试剂盒 (离心柱型)

用于快速提取植物基因组DNA

目录号: SG071 (50次)    SG072 (100次)

**使用手册**

2007年4月, 第2版

 **北京三博远志生物技术有限责任公司**  
**Beijing Sunbiotech Co., Ltd**

地 址: 北京海淀区东北旺南路 26 号

电 话: 010-62961251 62976446    传真: 010-62961251

网 址: 阳光生物网    <http://www.sunbiotech.com.cn>

Email: [market@sunbiotech.com.cn](mailto:market@sunbiotech.com.cn)

 **北京三博远志生物技术有限责任公司**  
**Beijing Sunbiotech Co., Ltd**

## 一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	50次 (SG071)	100次 (SG072)
缓冲液 SP1	室温	20ml	40ml
缓冲液 SP2	室温	10ml	20ml
缓冲液 SP3	室温	20ml	40ml
漂洗液 PW	室温	15ml	15mlX2
		<b>第一次使用前按说明加指定量乙醇</b>	
RNaseA (10mg/ml)	-20℃	200ul	400ul
洗脱缓冲液 EB	室温	10ml	20ml
吸附柱	室温	50 个	100 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个
说明书	室温	1 份	1 份

**本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。**

### 注意事项

1. 第一次使用前请先在漂洗液 PW 中加入 4 倍体积无水乙醇(试用装加 12ml 无水乙醇), 充分混匀, 加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入!
2. 溶液 SP1 和 SP3 低温时可能出现沉淀和析出, 可以热水浴重新溶解后使用。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化或 pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

## 二、原理简介

本试剂盒采用高效的缓冲液系统对样品进行裂解消化后, 通过沉淀、离心首先去除大部分蛋白质, 在高盐低 pH 的条件下 DNA 能够与硅胶膜特异性结合, 经过漂洗, 蛋白质和其他杂质被最大限度除去, 最后在低盐高 pH 条件下洗脱得到高纯基因组 DNA。实验过程中不需酚、氯仿等毒性有机溶剂抽提和乙醇沉淀等步骤, 提取的 DNA 纯度更高, 适用于 PCR、酶切等下游试验。

## 三、试剂盒特点

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜, 柱与柱之间吸附量差异极小, 可重复性好。
2. 不需要使用有毒的苯酚等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
3. 快速, 简捷, 单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
4. 提取得基因组 DNA 纯度高, OD260/OD280 在 1.7~1.9, 长度可达 23kb-50kb, 可直接用于 PCR 和各种酶切反应。

## 四、注意事项 (实验前必须首先阅读这部分!)

1. **所有的离心步骤均在室温完成**, 使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机, 如 Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
2. 不同来源的植物组织材料中提取的 DNA 的量会有差异, 一般 100mg 新鲜组织典型产量可达 3-25 $\mu$ g。
3. DNA 如果需要长期保存, 可以用 TE 缓冲液洗脱 (10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0), 但是 EDTA 可能影响下游酶切反应, 使用时可以适当稀释。

## 五、操作步骤

1. 取植物新鲜组织 100mg 在液氮中研磨至粉末状，加入 400ul 缓冲液 SP1，4ulRNAase A，迅速振荡混匀，室温放置 10 分钟。

2. 加入 130ul 缓冲液 SP2，充分混匀，13000rpm 离心 5 分钟。

3. 取上清（大约 400ul）加入到另一 1.5ml 离心管中，加入等体积缓冲液 SP3（如上清中仍有悬浮沉淀，应转移到新离心管中 13000rpm 再次离心 3 分钟。

注意：转移上清时请勿触及沉淀或将沉淀吸出，如吸入有沉淀，需要再次离心除去！

4. 加入 200ul 乙醇，充分混匀，取 600ul 上述溶液加入到吸附柱中，12000rpm 离心 1 分钟，弃去收集管中的废液，将剩余溶液加入同一吸附柱中，再次离心 1 分钟，弃去收集管中的废液。

注意：加入乙醇后，可能会出现絮状沉淀，应充分混匀，否则会影响 DNA 与吸附柱的结合以及杂质的去除。

5. 向吸附柱中加入 700ul 漂洗液 PW，12000rpm 离心 30 秒，倒掉废液

8. 向吸附柱中加入 500ul 漂洗液 PW，12000rpm 离心 30 秒，倒掉废液

9. 将吸附柱放回收集管中，12000rpm 离心 2 分钟，取出吸附柱室温放置几分钟，使吸附柱中硅胶膜彻底干燥。

注意：该步骤非常重要，酒精残留会严重影响洗脱效率以及后续试验。

10. 吸附柱转入一干净的离心管中，像硅胶膜中间部位加入 50-200 ul 洗脱缓冲液 EB，65°C 放置 5 分钟，12000 rpm 离心 1 分钟，将提取 DNA 溶液放置在 -20°C 保存。

洗脱缓冲液可以用去离子水代替，但水的 pH 值要在 8.0-8.5 之间，否则，会严重降低 DNA 的得率。

## 六、疑难解答 (Trouble shooting)

出现的问题	可能的原因	建议解决方法
DNA <sub>A7</sub> 产量低	处理材料过量或者裂解不完全	使用适量的起始材料，充分研磨或者匀浆
RNA 残留	植物含量 RNA 太丰富	在步骤 1 中加 RNase 后充分混匀。
未提取到 DNA	漂洗液 PW 中忘记加无水乙醇	第一次实验时，在漂洗液 PW 中加入指定量无水乙醇。
离心柱堵塞	裂解物太粘稠	减低起始材料量，不要处理过量
	离心力太小	加大离心力
洗脱下来的 DNA 溶液带颜色或者膜上有明显的色素残留	漂洗次数不够	步骤 8 完成后，加 500 μl 乙醇再漂洗一遍
	起始材料太多过量	减少起始处理材料，不要过量
DNA 产量低	离心柱残留有较多乙醇或者底部不慎沾有乙醇	确保做了步骤 9，否则残留乙醇会影响洗脱效率。
	使用了其它非最佳液体代替洗脱缓冲液	只使用洗脱缓冲液 EB 或 pH 在 8.0-8.5 之间的去离子水洗脱。
A <sub>260</sub> 吸光值异常偏高	一些硅基质膜成分一起洗脱下来，干扰了吸光值	将洗脱的基因组 DNA 溶液 12,000rpm 再离心一分钟，小心取上清使用。
DNA 下游酶切不能切开或者酶切不完全	离心柱残留有较多乙醇或者底部不慎沾有乙醇抑制了酶切反应	确保做了步骤 9，然后空气中晾几分钟，让残留乙醇挥发。