



Plant DNA Isolation Kit

Cat.No.DE-06111

For genomic DNA purification from various plant tissue

For research use only

Store at room temperature



目 录

产品介绍	3
产品特点	3
试剂盒应用	4
基因组 DNA 的应用	4
产品质量控制	4
试剂盒内容	5
产品信息	5
储存条件	5
试剂盒组分信息	6
注意事项	6
基因组 DNA 提取得率和纯度	6
基因组 DNA 片段大小	7
操作前准备事项	8
实验材料和设备	8
自备试剂	8
安全性	8
操作指南	9
● 操作步骤	9
DNA 浓度及纯度测定	10
快速操作示意图	11
问题分析指南	13

产品介绍

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的 DNA-Only Column、全新的 Foregene Protease 以及独特的缓冲体系，大大简化了植物基因组 DNA 提取步骤，在 30 分钟内可获得高纯度基因组 DNA，极大程度上避免了基因组 DNA 的降解。

离心柱中的 DNA-Only 硅胶膜可高效、特异吸附 DNA，无需添加任何有机试剂即可最大限度的去除 RNA、杂质蛋白、离子及多糖、多酚等有机化合物。获得的 DNA 片段大，纯度高、质量稳定可靠。

产品特点

- ◆ 无 RNA 酶污染：试剂盒提供的 DNA-Only Column 使得实验过程中无需额外添加 RNA 酶即可去除基因组 DNA 中的 RNA，避免实验室遭受外源 RNA 酶污染。
- ◆ 速度快：Foregene Protease 具有比同类蛋白酶更高的活性，消化组织样本速度快；操作简单，基因组 DNA 提取操作在 30 分钟内即可完成。
- ◆ 方便：离心操作均在常温，无需 4°C 低温离心或乙醇沉淀 DNA。
- ◆ 安全：无需有机试剂抽提。
- ◆ 质量高：提取获得的基因组 DNA 片段大、无 RNA、无 RNA 酶、离子含量极低，能满足各种实验的要求。

试剂盒应用

适用于新鲜或冻存的植物组织基因组 DNA 提取纯化。

基因组 DNA 的应用

Plant DNA Isolation Kit 纯化获得的基因组 DNA 纯度高，可用于常规分子生物学操作，如：酶切、PCR、Southern 杂交、文库构建等实验。

产品质量控制

按照福际生物试剂盒质量检测体系标准(FOREGENE's Total Quality Management System)，每一批次的植物基因组 DNA 提取试剂盒都严格进行多次测试，确保每一批次试剂盒质量的可靠性和稳定性。

试剂盒内容

Plant DNA Isolation Kit 植物基因组 DNA 提取试剂盒	
试剂盒组成	DE-06111
	50 T
Buffer PL1	30 mL
Buffer PL2*	30 mL
Buffer PW*	25 ml
Buffer WB	25 mL
Buffer EB	10 mL
Foregene Protease	1 mL
DNA-Only Column	50 套
说明书	1 份

*: Buffer PL2、Buffer PW中含有具刺激性的离液盐，操作时请注意戴上手套和进行相关防护措施。

产品信息

型号	离心柱型	纯化组件	Foregene 离心柱、试剂
通量	1-24 个样品	制备时间	~30 min (24 个样品)
离心机	台式离心机	组织酶解物分离	离心分离
纯化柱 DNA 承载量	80 µg	离心柱液体盛装量	800 µL
洗脱体积	100-200 µL	植物样本处理量	100 mg

储存条件

- ◆ 本试剂盒在常温(15–25°C)干燥条件下，可保存 24 个月；如需保存更长时间可置于 2–8°C。

注意：若低温保存，溶液容易产生沉淀。在使用前务必将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在 37°C 水浴中预热 10 分钟，以溶解沉淀，混匀后再使用。

- ◆ Foregene Protease 溶液具有独特配方，常温保存长期(3 个月)具有活性；在 4°C 保存，其活性和稳定性会更好，因此建议将其置于 4°C 保存，切记不能置于 -20°C 保存。

试剂盒组分信息

- ◆ Buffer PL1: 提供植物组织裂解环境。
- ◆ Foregene Protease: 在 Buffer PL1 的环境下酶解植物组织中的蛋白质。
- ◆ Buffer PL2: 失活 Foregene Protease, 并提供 DNA 上柱环境。
- ◆ Buffer PW: 去除 DNA 中的蛋白质、RNA 等杂质。
- ◆ Buffer WB: 去除 DNA 中的残留的盐离子。
- ◆ Buffer EB: 洗脱纯化柱膜上的 DNA。
- ◆ DNA-only Column: 特异吸附裂解产物中的基因组 DNA。

DNA-Only Column 特性

DNA最大结合能力(Maximum binding capacity)	80 µg
上清最大载量体积(Maximum loading volume)	800 µL
最大DNA片段(Longset DNA fragment)	23 kb
最小洗脱体积(Minimum elution volume) *	100 µL
最佳样本选取(Selection of samples)	新鲜、幼嫩的植物叶片
样本最大初始量(Maximum amount of starting material) *	100 mg植物样本

*: 100 µL 的最小洗脱体系是在兼顾 DNA 回收率及浓度给出的比较合理的建议体积。如果为了提高 DNA 的产量, 可以适当增加洗脱液体积; 如果为了提高纯化得到的 DNA 浓度, 在牺牲一部分 DNA 得率的前提下, 适当的减少洗脱液体积, 比如采用 50 µL 的洗脱体系, 以期得到更高浓度的 DNA。

基因组 DNA 提取得率和纯度

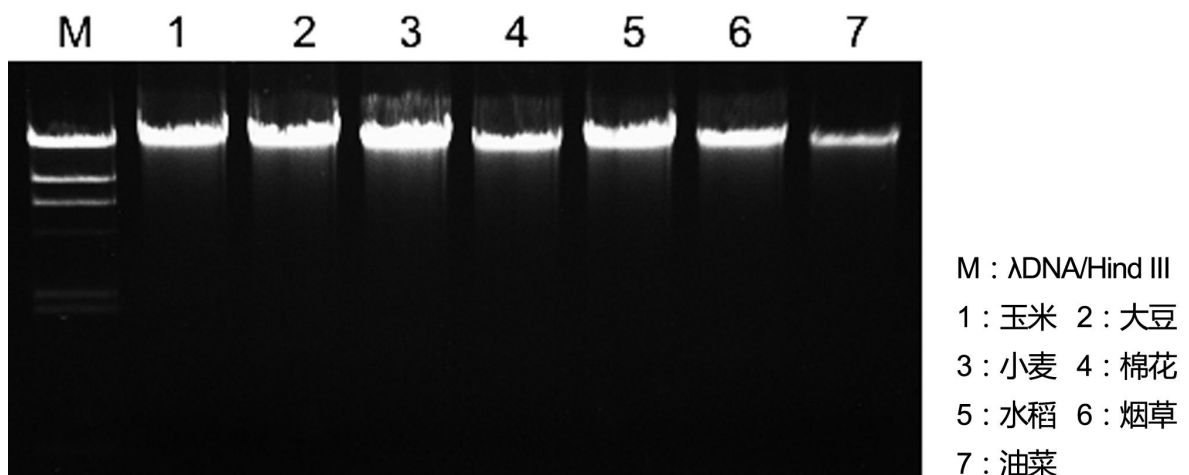
提取获得的植物基因组 DNA 量与植物样本的来源、样本的新鲜程度、保存条件、水分含量等因素相关。使用 Plant DNA Isolation Kit 处理各种来源植物新鲜叶片样本，获得的基因组 DNA 量和纯度见下表：

新鲜幼嫩叶片	样本用量(mg)	DNA 产量(μg)	OD260/280
玉米	100	4-7	1.7-1.9
大豆	100	5-7	1.7-1.9
小麦	100	10-14	1.7-1.9
棉花	100	3-5	1.7-1.9
水稻	100	4-6	1.7-1.9
烟草	100	5-7	1.7-1.9
油菜	100	2-3	1.7-1.9

注意：此表数据仅作参考，实际操作中由于所用材料的存储条件、操作熟练度等因素影响，所得数据会与此表数据有些许出入。

基因组 DNA 片段大小

植物基因组 DNA 提取试剂盒是采用硅胶膜柱分离纯化植物基因组 DNA，纯化获得的基因组 DNA 片段大小均在 23 kb 附近。如图：



Plant DNA Isolation Kit处理不同植物新鲜叶片100mg，取5%纯化的基因组DNA进行1%凝胶电泳

注意事项：（请务必在使用试剂盒前仔细阅读注意事项）

- ◆ 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会下降。
- ◆ 新鲜植物叶片或组织的用量不要超过 100 mg，干燥植物组织用量不要超过 30 mg，否则会影响 DNA 产量和纯度。
- ◆ 使用前，仔细检查 Buffer PL1、Buffer PL2 和 Buffer PW 中是否有沉淀析出，若有沉淀析出，请将其置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- ◆ 试剂盒使用前，请务必检查 Buffer WB 是否按说明添加了无水乙醇。Buffer WB 在使用前分别添加 60 mL 无水乙醇(DE-06111)。
- ◆ 洗脱体积：Buffer EB 不应少于 100 μ l，否则会影响 DNA 产量。
- ◆ 切记不要在任何 Buffer 中添加 RNA 酶。
- ◆ 所有离心步骤均为使用台式离心机常温(15-25°C)离心。
- ◆ 所有实验步骤均在常温(15-25°C)进行。

操作前准备事项

使用本试剂盒前，请务必仔细阅读说明书。植物基因组 DNA 提取试剂盒操作简单、方便、快速，说明书提供了整个试剂盒的完整信息和正确使用方法。请在使用前准备好必要的实验材料和设备。

实验材料和设备

- ◆ 各种来源的植物样本。
- ◆ 1.5 mL 或 2 mL 无菌离心管。
- ◆ 台式离心机($\geq 13,400 \times g$)、65°C水浴或金属浴、移液器、涡旋仪等。

自备试剂

- ◆ β -巯基乙醇
- ◆ 无水乙醇

安全性

- ◆ 本产品仅供科研使用，请勿用于医药、临床医学、食品及化妆品等用途。
- ◆ 使用化学品时，穿戴合适的实验服，手套，防护眼镜等。
- ◆ Buffer PL2、Buffer PW 含有胍盐：变性剂，刺激性。
- ◆ Buffer WB 含无水乙醇：易燃。
- ◆ Foregene Protease：增敏剂，刺激性。

操作指南

植物基因组 DNA 提取试剂盒提供了一种快速处理植物组织，纯化基因组 DNA 的方法，请严格按照植物基因组 DNA 提取操作步骤进行相关实验。

材料取用说明

新鲜或冻存的植物组织：新鲜叶片或组织 100 mg、干燥叶片或组织 30 mg。

预防样本间交叉污染

为了避免样本间交叉污染，每次取样后都需要将取样器材的刃口或与样本直接接触的部位浸入 2%次氯酸钠溶液中，反复洗刷数次进行清洗，然后用干净的纸巾擦干残余液体后再进行使用。为了试验方便，也可准备多个取样器材，在使用完后进行统一清洗，确保每一单独样本均使用的是无污染的取样器材。

基因组 DNA 提取操作步骤 **(请严格按照本操作说明进行相关实验操作)**

使用前请先在 Buffer WB 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取 **600 μ L Buffer PL1** 加入 2 mL 离心管中，加入 **20 μ L Foregene Protease**, **2 μ L β -巯基乙醇**(需自备)，混匀后置于 65°C 金属浴或水浴中预热。
2. 取适量新鲜植物叶片或组织、干燥组织，尽量剪碎，置于预冷的研钵中，加入液氮充分研磨。
3. 迅速称取 **100 mg** 研磨好的新鲜植物叶片或组织粉末、或 **30 mg** 干燥组织粉末，转移至 65°C 预热好的 **Buffer PL1** 中。迅速颠倒混匀后，将离心管放在 65°C 金属浴或水浴中 10 min，每间隔 5 min 颠倒混匀一次。

注意：研磨完成后，样本粉末立即转移，否则基因组 DNA 会快速降解。

4. 加入 **600 μ L Buffer PL2**，充分混匀，放回 65°C 金属浴或水浴 10 min。
5. 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 5 min。
6. 使用微量移液器将上清液转移到一新离心管中。

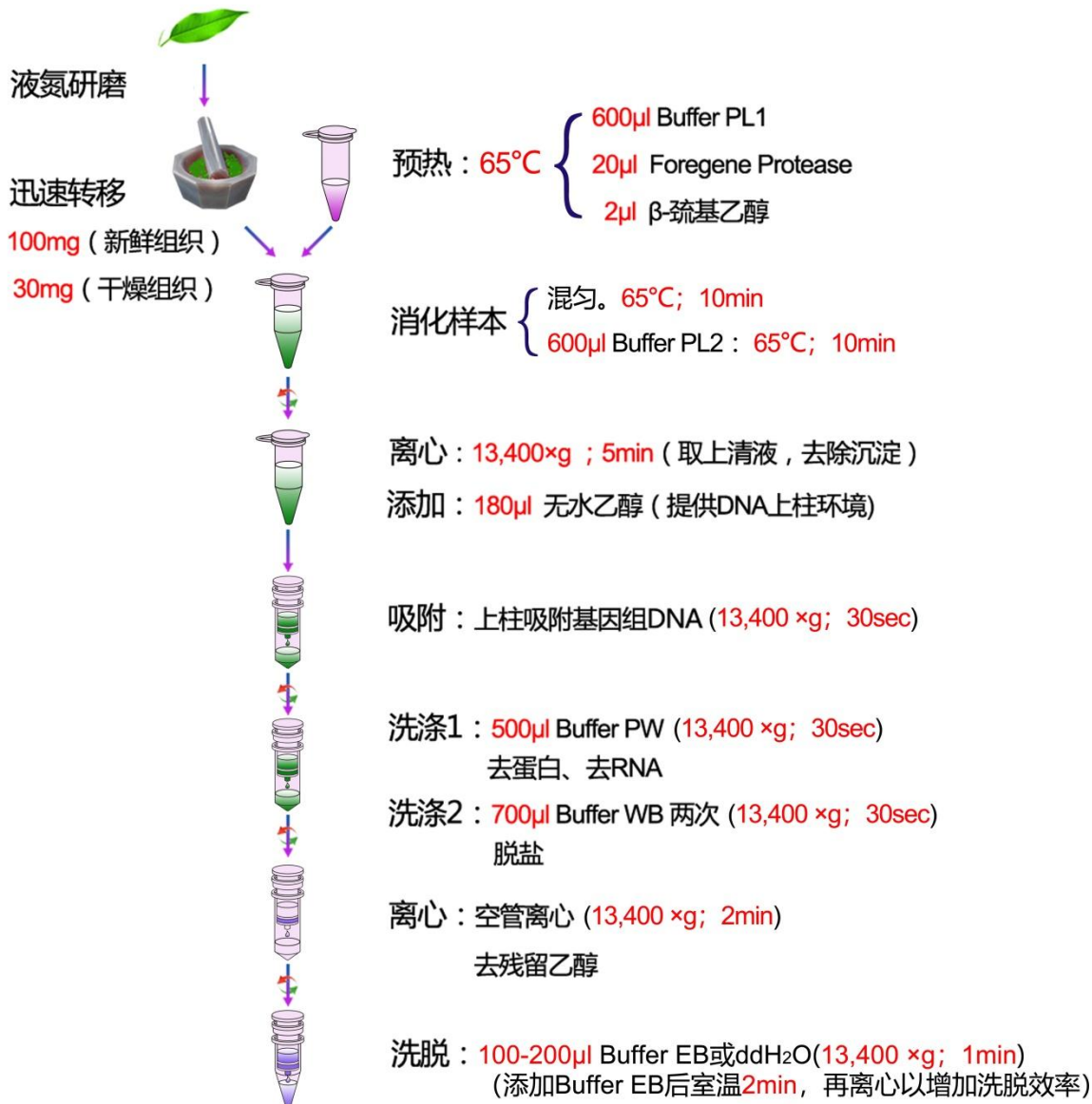
注意：尽量不要吸到沉淀，如果所吸取的上清中存在较多固体杂质，可重复步骤 5、6 一次。

7. 加入 **180 μ L 乙醇** (96-100%)，充分涡旋混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
8. 将离心柱放入收集管中，取 800 μ L 混合液加入离心柱(DNA-Only Column)中，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)，离心 30 sec，弃掉收集管中废液。
9. 将离心柱放回收集管中，将剩余混合液全部加入离心柱中，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)，离心 30 sec，弃掉收集管中的废液。
10. 向离心柱中加入 **500 μ L Buffer PW**，12,000rpm(\sim 13,400 \times g)离心离心 30 sec，弃掉收集管中的废液。
11. 向离心柱中加入 **700 μ L Buffer WB**(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)离心离心 30 sec，弃掉收集管中的废液。
12. 重复步骤 11 一次。
13. 将离心柱放回收集管中，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g)空管离心 2 min。
14. 将离心柱移至新的 1.5 mL 离心管中，向膜中央悬空滴加 **100 μ L** 已于 **65 $^{\circ}$ C**预热的 **Buffer EB**(切勿将洗脱液添加到压圈上，否则会损失较大体积的洗脱液)，室温放置 2 min，12,000 rpm(\sim 13,400 \times g) 离心 1min。再次向胶膜中央悬空滴加 **100 μ L** 已预热的 **Buffer EB**，12,000rpm(\sim 13,400 \times g) 离心 1min。将两次收集的洗脱液汇集。注意：如果希望提高 DNA 的浓度，可将第 1 次离心得到的溶液重新加回离心柱中，12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心 1 min。

DNA 浓度及纯度检测

- ◆ 得到的基因组 DNA 的质量与操作过程中的多种因素有关。DNA 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 的 OD260 值为 1 相当于大约 50 μ g/mL 双链 DNA。
- ◆ DNA 的 OD260/280 \approx 1.7-1.9。如果洗脱时不使用洗脱缓冲液 Buffer EB，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。

快速操作示意图



问题分析指南

以下针对植物基因组 DNA 提取中可能遇到的问题进行分析，希望能对您的实验有所帮助。另外，对于在操作说明和问题分析以外的其他实验或技术上的问题，我们设有专门的技术支持帮助您。如有任何需要可联系我们：028-83360257 或 E-mail:

Tech@foregene.com。

低产量或无 DNA

通常有多种因素会影响基因组 DNA 产量，包括样本来源、样本新老程度、样本保存条件、操作等。

提取过程中无法获得基因组 DNA

1. 组织样本保存不当或保存时间太长，导致基因组 DNA 已经降解。
建议：组织样本保存于液氮或者-20℃；尽量使用新近采集样本进行基因组 DNA 的提取。
2. 样本用量过少可能导致提取不到相应的基因组 DNA。
建议：对于保存时间很长或基因组 DNA 降解比较厉害的组织样本，可以适当增加组织样本的用量，以便提取获得可观的基因组 DNA。可以根据 DNA 需要确定样本的用量，但是新鲜样本不宜超过 100 mg，干燥样本不宜超过 30 mg。
3. 样本没有进行液氮研磨或液氮之后放置时间过长。
建议：在进行 DNA 提取时，样本需进行液氮充分研磨以破碎细胞壁；研磨完成后请尽快将样本粉末转移至 65℃预热的 PL1 中(一旦研磨的粉末融化，基因组 DNA 便开始快速降解)。
4. Foregene Protease 保存不当，导致其活性降低或失活。
建议：确认 Foregene Protease 保存条件或者更换新的 Foregene Protease 进行酶解反应。
5. 试剂盒保存不当或存放时间太长，导致试剂盒里面某些组分失效。
建议：购置新的植物基因组 DNA 提取试剂盒进行相关操作。
6. 试剂盒使用不当。
建议：购置样本专用的植物基因组 DNA 提取试剂盒(Plant DNA Isolation Kit)进行植物基因组 DNA 的提取纯化。

7. Buffer WB 没有添加无水乙醇。
建议：确认 Buffer WB 中添加正确体积的无水乙醇。
8. 洗脱液没有正确滴加到硅胶膜上。
建议：将 65°C 预热的洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5 分钟增加洗脱效率。

提取获得低产量基因组 DNA

1. 样本保存不当或保存时间太长，导致基因组 DNA 降解。
建议：组织样本保存于 -20°C；尽量使用新近采集组织样本进行基因组 DNA 的提取。
2. 组织样本用量过少，提取到的基因组 DNA 含量会较少。
建议：有些植物样本含水量丰富，比如：水生植物如藻类等，可以适当增加其用量或将其稍微失水后再进行操作。
3. 样本液氮研磨不彻底或者研磨完成后在室温放置时间过长。
建议：液氮研磨一定要充分，尽量破碎样本细胞壁；研磨完成后立即将样本粉末转移至 65°C 预热的 Buffer PL1 中进行下一步操作。
4. 没有使用正确的试剂盒。
建议：使用专用的植物基因组 DNA 提取试剂盒(Plant DNA Isolation Kit)进行植物基因组 DNA 的提取纯化。
5. Foregene Protease 保存不当，导致其活性降低或失活。
建议：确认 Foregene Protease 保存条件或者更换新的 Foregene Protease 进行酶解反应。
6. 洗脱液问题
建议：请使用 Buffer EB 进行洗脱；如果使用 ddH₂O 或其他洗脱液，确认洗脱液的 pH 值在 7.0-8.5 之间。
7. 洗脱液没有正确滴加
建议：请将洗脱液滴加到硅胶膜的正中间，并在室温放置 5 分钟增加洗脱效率。
8. 洗脱液体积太少
建议：请按说明书上要求使用洗脱液进行基因组 DNA 洗脱，最少不要低于 100μl。

提取获得基因组 DNA 纯度低

基因组 DNA 纯度低会导致下游实验的失败或效果差，如：酶切不开，PCR 得不到目的基因片段等。

1. 杂蛋白污染、RNA 污染。

分析：没有使用 Buffer PW 洗涤纯化柱；Buffer PW 洗涤纯化柱没有使用正确的离心转速。

建议：在上清液过柱时尽量保证上清液中无沉淀；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

2. 杂质离子污染。

分析：省略了 Buffer WB 洗涤纯化柱或者只洗涤了一次，导致残留的离子污染。

建议：务必按说明书使用 Buffer WB 洗涤 2 次，以尽量去除残留的离子。

3. RNA 酶污染。

分析：Buffer 中添加了外源的 RNA 酶；Buffer PW 洗涤操作不正确，导致 RNA 酶残留，影响下游 RNA 实验操作，如：体外转录等。

建议：Foregene 系列核酸提取试剂盒无需额外添加 RNA 酶即可去除 RNA，Plant DNA Isolation Kit 里面所有试剂均无需添加 RNA 酶；务必按说明书进行 Buffer PW 洗涤纯化柱，并且此步骤不能省略。

4. 乙醇残留。

分析：Buffer WB 洗涤纯化柱后，没有进行空管离心操作。

建议：按说明书进行正确的空管离心操作。

中国·凡晶 World's Foregene

成都凡晶生物技术有限公司

电话：028-83360257, 028-83361257

E-mail: info@foregene.com

[Http://www.foregene.com](http://www.foregene.com)

