

版本号: DP140110

# N96 DNasecure Plant Kit

## N96新型植物基因组DNA提取试剂盒

(离心板型)

目录号: DP337

### 产品内容

产品组成	DP337 (2 plates)
缓冲液LP1 (Buffer LP1)	100 ml
缓冲液LP2 (Buffer LP2)	40 ml
缓冲液LP3 (Buffer LP3)	84 ml
漂洗液PW (Buffer PW)	50 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	60 ml
RNase A (10 mg/ml)	1.25 ml
96孔过滤板 (N96 Filtration Plate (H))	2块
96孔吸附板CB3 (N96 Plate CB3 (H))	2块
96孔深孔板(N96 Well Plate)	6块
封口膜(Plate Cover)	12张

### 储存条件

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下可保存12个月；更长时间的保存可置于2-8℃。在2-8℃保存条件下，若产生沉淀，使用前应先将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间，必要时可在37℃水浴中预热10 min，以溶解沉淀。

---

## 产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附板和独特的缓冲液系统，提取多种植物组织中的基因组DNA。离心吸附板中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA，可最大限度去除杂质蛋白。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。

## 产品特点

**简单快速：**1h内即可获得超纯的基因组DNA。

**广 泛：**适用于各种植物组织。

**超 纯：**获得的DNA纯度高，可直接用于PCR、酶切、杂交等分子生物学实验。

## 注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

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. 缓冲液LP1可能发黄，并不影响提取效果。
3. 若缓冲液LP1或LP2有沉淀析出，可在37°C水浴溶解，摇匀后使用。
4. 所有离心步骤均为使用台式离心机，室温下离心。

## 操作步骤（离心法）

使用前请先在缓冲液LP3和漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

### 1. 处理材料：

取植物新鲜组织100 mg或干重组织30 mg，加入液氮充分碾磨。往研磨好的每个样本中加入400  $\mu$ l缓冲液LP1和6  $\mu$ l RNase A(10 mg/ml)，旋涡振荡1 min，室温放置10 min。

**注意：**为避免组织还潮，当样本量大时，可提前按上述比例预混缓冲液LP1和RNase A。

---

- 
2. 加入130  $\mu$ l缓冲液LP2，充分混匀，旋涡振荡1 min。
  3. 12,000 rpm( $\sim$ 13,400  $\times$  g)离心5 min。
  4. 将上述离心后的上清液，转移至96孔过滤板，96孔过滤板置于96孔深孔板上，加盖封口膜。3600 rpm( $\sim$ 2,130  $\times$  g)离心10 min，收集滤液至96孔深孔板。

**注意：如果有未研磨彻底的植物组织或可能造成堵孔的大的碎片，请不要转移至96孔过滤板，否则有堵孔的危险。**

5. 加入滤液1.5倍体积的缓冲液LP3(例如500  $\mu$ l的滤液加750  $\mu$ l缓冲液LP3) (使用前请检查是否已加入无水乙醇)，加盖封口膜，立即充分振荡混匀15 s(或用排枪吹打混匀)，此时可能会出现絮状沉淀。
6. 将上一步所得溶液和絮状沉淀都加入一个96孔吸附板CB3中(吸附板已放置在96孔深孔板)，加盖封口膜。3600 rpm( $\sim$ 2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液，96孔吸附板CB3重新放回96孔深孔板。
7. 向96孔吸附板CB3中加入600  $\mu$ l 漂洗液PW(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，加盖封口膜。3600 rpm( $\sim$ 2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液，将96孔吸附板CB3重新放回96孔深孔板。
8. 向96孔吸附板CB3中加入600  $\mu$ l漂洗液PW，加盖封口膜。3600 rpm( $\sim$ 2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液。

**注意：如果吸附板膜呈现绿色，向96孔吸附板CB3中加入500  $\mu$ l 无水乙醇，3600 rpm ( $\sim$ 2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液，将96孔吸附板CB3放回96孔深孔板。**

9. 将96孔吸附板CB3放回96孔深孔板中，3600 rpm( $\sim$ 2,130  $\times$  g)离心5 min，倒掉废液。将96孔吸附板CB3置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

**注意：这一步的目的是将吸附板中残余的漂洗液去除，漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。**

10. 将96孔吸附板CB3转入一个干净的96孔深孔板中，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200  $\mu$ l 洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，3600 rpm( $\sim$ 2,130  $\times$  g)离心8 min，将溶液收集到96孔深孔板中。
-

---

注意：为增加基因组DNA的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附板CB3中，室温放置2 min，3600 rpm( $\sim 2,130 \times g$ )离心8 min。洗脱缓冲液体积不应少于50  $\mu$ l，体积过小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用ddH<sub>2</sub>O做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率；且DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。

## 操作步骤（负压法）

若采用负压法进行提取，步骤1至步骤3操作同离心法。

4. 正确连接负压装置，将96孔过滤板CS置于负压装置上，下面放置一个新的96孔深孔板，将负压压力调节至40-70 kpa；将上述离心后的上清液，转移至96孔过滤板CS，打开负压装置开关，抽滤2 min。
  5. 向收集滤液的96孔深孔板加入滤液1.5倍体积的缓冲液LP3（例如500  $\mu$ l的滤液加750  $\mu$ l缓冲液LP3）（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），排枪抽打混匀。
  6. 将96孔过滤板CS从负压装置上取下，96孔吸附板CB3置于负压装置上，下面放置废液槽，将上一步骤的所有液体及沉淀转移至96孔吸附板CB3，打开负压装置开关，抽滤5 min。
  7. 向96孔吸附板CB3中加入600  $\mu$ l 漂洗液PW（使用前请先检查是否已加入无水乙醇），打开负压装置开关，抽滤2 min。
  8. 向96孔吸附板CB3中加入600  $\mu$ l 漂洗液PW，打开负压装置开关，抽滤5 min。
  9. 关掉负压装置开关，清理废液槽，将96孔吸附板CB3室温放置3 min。
  10. 96孔吸附板CB3置于负压装置上，下面放置一个新的96孔深孔板，向吸附膜的中间部位悬空滴加50-200  $\mu$ l洗脱缓冲液TE，室温放置2-5 min，打开负压装置开关，抽滤3-5 min。
-