产品组分

组分名称	组分编号	规格 50 RXN
RNase A（10 mg/mL）	RM30149	550 μL
Buffer DL1 Plus	RM30150	25 mL
Buffer DL2	RM30151	7.5 mL
Buffer DL4	RM30152	21 mL
Buffer EB2	RM30153	10 mL
Buffer DW2	RM30154	12 mL
Spin Column 4	RM30187	50 pk
2 mL Collection Tubes	RM30188	50 pk
1.5 mL Microcentrifuge Tubes	RM30595	50 pk

产品说明

本试剂盒适用于从多种不同植物组织或植物培养细胞中快速简单地提取基因组 DNA，提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，稳定性好，可直接用于 PCR、酶切和杂交等实。新鲜或冻存植物组织经裂解后，离心去除蛋白质、多糖、细胞残片，在优化的结合条件下 DNA 可与吸附柱中的吸附膜特异性结合，再经快速充分的洗涤步骤去除蛋白质和盐分等残留杂质，最后使用 Buffer EB2 洗脱获得基因组 DNA。

保存条件

1. 本试剂盒在室温（15-25℃）干燥条件下可保存 12 个月。
2. 使用前请检查 Buffer DL1 plus 或 Buffer DL2 是否有沉淀析出，如有可置于 37℃水浴重新溶解，摇匀后使用。

产品特点

1. 无需用到酚/氯仿、巯基乙醇或 DTT 等有毒试剂，提取过程安全无毒；
2. 操作简单方便，无需水浴、冰浴，室温下 30 min 即可完成单管提取；
3. 适用性广泛，已验证多种植物样本提取；
4. 获得核酸质量高、纯度好，满足下游多种实验需求。

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 DL1 plus 可能会发黄，不影响提取效果。
3. 若 Buffer DL1 plus 或 Buffer DL2 有沉淀析出，可置于 37℃水浴重新溶解，摇匀后使用。
4. 所有离心步骤均在台式离心机内室温下完成。
5. 对于多糖多酚含量特别高的植物，建议在 Buffer DL1 plus 中加入 2% PVP-40 和 0.2% β-巯基乙醇（自备）。
6. 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 时洗脱效率明显降低。

操作说明

自备材料

无水乙醇、1.5 mL 灭菌离心管、PVP-40（可选）、β-巯基乙醇（可选）。

实验前准备

第一次使用前请先在 Buffer DL4 瓶加入 27 mL 的无水乙醇，Buffer DW2 瓶中加入 48 mL 的无水乙醇。

操作步骤（请先阅读注意事项）

1. 样本处理：取新鲜植物组织或干燥植物组织，加入液氮充分研磨成粉末。

   注：1. 进行 DNA 提取时，每管样本用量：新鲜植物组织≤100 mg；干燥植物组织≤20 mg。请根据下游所需 DNA 用量，选择合适的植物组织量进行液氮研磨。2. 液氮研磨后的样本如不立即使用，请置于-70℃保存，避免反复冻融。

2. 转移研磨好的 100 mg 新鲜植物组织或 20 mg 干燥植物组织至 1.5 mL 离心管（自备），立即加入 400 μL **Buffer DL1 plus** 和 10 μL **RNase A（10 mg/mL）**，涡旋振荡 2 min，至样本与溶液充分混匀，室温放置 10-15 min。

   注：1. 样本与溶液一定要充分混匀，防止样本在溶液中结块而影响最终的基因组 DNA 提取得率。2. 样品处理量不要超过试剂盒兼容量，否则导致样品裂解不充分；对于水分含量多的样本，如草莓、西瓜等可适量增加样本量。3. 在样本多糖多酚含量特别高的时候，可以在 Buffer DL1 plus 中同时加入 2% PVP-40 和 0.2% β-巯基乙醇。

3. 加入 130 μL **Buffer DL2**，旋涡振荡 1 min，充分混匀。12,000 rpm（13,400 × g）离心 5 min，小心吸取适量的上清液至新的离心管中。
4. 加入 1.5 倍上清液体积的 **Buffer DL4**（首次使用在瓶中加入 27 mL 无水乙醇），例如：400 μL 的上清液加 600 μL Buffer DL4，立即充分振荡混匀 30 sec，此时可能会出现絮状沉淀。
5. 将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱 Spin Column 4（吸附柱放在收集管中），12,000 rpm（13,400 × g）离心 30 sec，弃去滤液，将吸附柱放回收集管中。（吸附柱容积为 700 μL 左右，可分次加入溶液后离心。）
6. 加入 500 μL **Buffer DW2（首次使用在瓶中加入 48 mL 无水乙醇）**至吸附柱 Spin Column 4，12,000 rpm（13,400×g）离心 30 sec，弃废液，将吸附柱放回收集管中。
7. 重复操作步骤 6 一次。
8. 12,000 rpm（13,400 × g）离心 3 min，倒掉收集管中的废液。
9. 将吸附柱转入一个新的 1.5 mL 离心管中，打开吸附柱盖子，室温晾干 2-3 min。向**吸附膜中央部位**悬空滴加 60-100 μL **Buffer EB2**，12,000 rpm（13,400 × g）离心 1 min，得到 DNA 溶液。

   注：为提高基因组 DNA 的得率，可将离心得到的溶液再加入吸附柱 Spin Column 4 中，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min。Buffer EB2 体积应不少于 60 μL，体积过小影响回收效率。

常见问题及解决方案

常见问题	原因	解决方案
柱子堵塞	1. 样品用量太多	减少样品用量。初次实验时，推荐使用 50 mg 新鲜或 15 mg 干燥样品，根据实验结果再调整样品用量。
	2. 样品研磨裂解不充分，团块多	充分研磨植物组织，加入 Buffer DL1 plus 后立即涡旋混匀，直到无明显的结块。
	3. 离心力太小	加大离心力，将第 3 步 12,000 rpm（13,400 × g）升高到 14,000 rpm（18,400 × g）。
DNA 产量低	1. 样品裂解不充分	用液氮将样品研磨至细小的粉末状。加入 Buffer DL1 plus 后，没有让样品充分分散。若涡旋无法让样品充分分散时，可用移液枪吸吐几次用于打散样品。
	2. 样品富含多酚类物质	在第 2 步 Buffer DL1 plus 加入 PVP-40 和β-巯基乙醇，用于提高裂解液的抗氧化能力。
	3. 试剂准备有误	Buffer DL4 和 Buffer DW2 需要按照瓶子标签加入正确的无水乙醇。
	4. 洗脱不充分	Buffer EB2 需加至吸附柱的膜中央；增加洗脱体积或次数；将 Buffer EB2 预热到 65°C 后再加入膜中央。
DNA 溶液带颜色或膜上有色素残留	1. 漂洗次数不够	步骤 7 完成后，加 500 μL 无水乙醇再漂洗一遍。
	2. 样品起始量过多	减少样品起始量，避免过量。
DNA 纯度不达标	1. 样品富含多糖类物质	在第 2 步 Buffer DL1 plus 加入 PVP-40 和β-巯基乙醇，有利于提高纯度。
	2. 样品起始量过多	减少样品起始量，避免过量。
	3. 漂洗次数不够	步骤 7 完成后，加 500 μL 无水乙醇再漂洗一遍。