安全：

试剂盒所有试剂不含有任何致癌、致畸或致突变成分。

环保：

所用试剂瓶材质均为高透明 PP 塑料，可反复高压灭菌，耐腐蚀，如强酸（硝酸除外）、强碱、有机溶剂等。试剂用完以后，可作为普通试剂 瓶反复使用。

试剂盒贮存条件：

请于 4℃保存。

Beibei Biotech. Co., Ltd.
贝贝生物科技

Cat# 081019

Chloroplast DNA Isolation Handbook

For Research Use Only

(50)

产品说明：

本产品适用于提取植物叶片、组织等叶绿体 DNA。获得叶绿体 DNA 纯度高。对于多糖、多酚类植物，仍有最佳的提取效果。

产品成分：

1、HG Solution: (300ml)：组织匀质液

* 请于低温 4℃保存

2、PL Solution （32ml）: DNA 提取液

3、WB Buffer（20ml)： 清洗液

** 请在使用前加入 80ml 无水乙醇，总体积达到 100ml

4、Elution Buffer

自备耗材、容器：

1、组织匀浆器或研钵

2、100ml 烧杯

3、医用纱布

4、5-10ml 离心管

提取步骤：

1、前处理：植物叶片或组织，提取叶绿体前，需要暗处理（避光培养或放置）1-2 天，将叶绿体里的淀粉消耗干净（新鲜叶片如含有过多淀粉，提取过程会导致叶绿体破裂）。

组织破碎：取植物叶片、组织等 1g，放入预冷的匀浆器或研钵中，加入 HG Solution 4-6ml，破碎组织，充分匀浆（如叶片或组织含水量较少，可适当增加 HG Solution 的量；如叶片或组织的量大，可按比例增加 HG Solution 的量）。

2、取 4 层纱布放于 100ml 烧杯上，将匀浆液小心倒入纱布上，最后，用手小心拿起纱布，包裹匀浆液残渣，挤压干净残余液体到烧杯里。

3、将烧杯里的滤出液倒入适当离心管（5-10ml）中，1000g 离心 1min，弃沉淀，小心将上清倒入新的离心管中。

4、4000g 离心 4min 后，小心将上清倒除干净，保留沉淀。

5、加入 500μl PL Solution，用枪头反复吹打沉淀，至全部溶解，避免有颗

记录：

附加方法：

上述方法提取叶绿体 DNA，纯度已经很高，完全满足常规基因克隆、测序等要求，为进一步提高纯度，可使用附加方法。

附加试剂：
1、DLA Buffer (22ml)：低密度溶液
2、DLB Buffer (32ml)：高密度溶液
*** 两种溶液请于低温 4℃保存

常规提取步骤 4 以后，执行下列步骤：

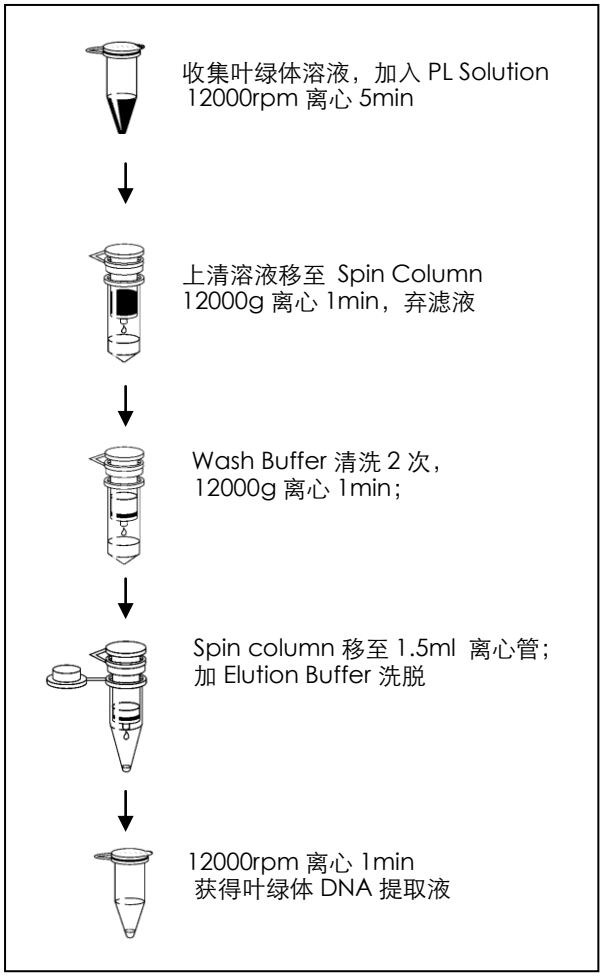
a、在 1.5ml 离心管中，从管底缓慢加入 DLB Buffer 500μl，然后，在 DLB 液面上，枪头抵住离心管壁，缓慢加入 DLA Buffer 300μl，可见两层溶液间有明显分层。
b、常规提取步骤 4 获得的沉淀里，加入 200μl HG Solution，枪头反复吸打重悬至无颗粒出现。
c、将重悬液小心缓慢地加入到 DLA Buffer 层上面，不得破坏原有分层。
d、7000g 离心 7min 后，小心取出离心管，不得破坏分层，将最上层溶液缓慢吸走，丢弃，收集 DLB 与 DLA 交界层处叶绿体溶液，吸取到新的 1.5ml 离心管里。

后面的步骤，按照常规提取步骤 5 开始执行。

说明：

1、离心转子最好用水平转子；普通转子也可使用，但离心结束后，抽取叶绿体溶液时，注意液面变化。
2、如能设置离心停止时间，自然停止最好。

常规提取流程图：



记录：

粒出现。

6、将溶解液吸入 1.5ml 离心管中，12000g 离心 5min。

7、将上清吸入 Spin Column 中，12000g 离心 1min，弃滤液。

8、加入 600μl Wash Buffer，12000g 离心 1min，弃滤液。

9、重复步骤 8。

10、小心将 Spin column 取出（避免沾上滤出液；如沾上滤出液，可重新离心去除），放入新的 1.5ml 离心管中。

11、吸入 50μl Elution Buffer，室温放置 1-2min 后，12000rpm 离心 1min，收集滤液，获得叶绿体 DNA。

注意事项：

1、注意离心转速单位为 g，不是 rpm。

2、本试剂盒提取 DNA 纯度非常高，如紫外检测 260/230 值低于 1，是由于提取过程中有微量胍盐残留，对后续 PCR 及基因克隆无任何影响。