

新型植物基因组 DNA 提取试剂盒

项目号: N667427

储存条件: 室温。

产品内容

组分	50T	200T
Buffer LP1	25mL	100mL
Buffer LP2	10mL	40mL
Buffer LP3 (concentrate)	21ml	84ml
Buffer GW2 (concentrate)	15mL	75ml
Buffer GE	15mL	60mL
RNase A (10 mg/ml)	300 μ l	1.25mL
Spin Columns DM with Collection Tubes	50	200

产品简介

本试剂盒采用高效、专一结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲系统, 适合从各种不同的新鲜或冻存植物组织中提取基因组 DNA, 并可最大限度去除植物组织中的杂质。本试剂盒无需使用酚/氯仿抽提, 操作安全。提取的基因组 DNA 片段大、纯度高、质量稳定可靠, 适用于 PCR、荧光定量 PCR、分子标记、文库构建等实验。

自备试剂: 无水乙醇

实验前准备及重要注意事项

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. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在 Buffer LP3 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇。使用前请检查 Buffer LP1 和 Buffer LP2 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀, 请将 Buffer LP1 和 Buffer LP2 于 56°C 水浴重新溶解。

操作步骤

1. 取植物新鲜组织 100mg 左右或干重组织约 20mg, 加入液氮充分研磨。
2. 将研磨后的粉末收集到离心管 (自备) 中, 加入 400 μ l Buffer LP1 和 6 μ l RNase A (10 mg/ml), 涡旋振荡 1 分钟, 室温放置 10 分钟, 使其充分裂解。

注意: 1) 使用涡旋振荡或移液器吹打, 充分裂解组织, 组织裂解不完全会影响最终的 DNA 得率。2) 请勿在使用前将 Buffer LP1 与 RNase A 混合。

3. 加入 130 μ l Buffer LP2, 混匀, 涡旋震荡 1 分钟。
4. 12,000 rpm (\sim 13,400 \times g) 离心 5 分钟, 将上清移至新的离心管 (自备) 中。

5. 加入 1.5 倍体积的 Buffer LP3 (使用前检查是否已加入无水乙醇), 充分混匀 (如 500 μ l 滤液加入 750 μ l Buffer LP3)。

注意: 加入 Buffer LP3 后应立即混匀, 可能会产生沉淀但不影响后续实验。

6. 将上步所得溶液和沉淀全部加入到已装入收集管的吸附柱 (Spin Columns DM) 中, 若一次不能加完溶液, 可分多次转入。12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入 500 μ l Buffer GW2 (使用前检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

注意: 如吸附膜呈现绿色, 向吸附柱中加入 500 μ l 无水乙醇, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。

8. 重复步骤 7。

9. 12,000 rpm 离心 2 分钟, 倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟, 以彻底晾干。

注意: 这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除, 乙醇的残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等)。

10. 将吸附柱放到一个新离心管 (自备) 中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100 μ l Buffer GE 或灭菌水, 室温放置 2-5 分钟, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 收集 DNA 溶液。-20 $^{\circ}$ C 保存 DNA。

注意: 1) 如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感, 可以用灭菌水洗脱。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 时洗脱效率不高。

2) 离心之前室温孵育 5 分钟可以增加产量。

3) 如果要提高 DNA 的终浓度, 可以将步骤 10 所得的 DNA 洗脱液重新加至吸附膜上, 重复步骤 10; 若洗脱体积小于 100 μ l, 可以增加 DNA 的终浓度, 但可能会减少 DNA 的总产量。如果所得 DNA 的量小于 1 μ g, 推荐用 50 μ l Buffer GE 进行洗脱。

4) 因为保存在水中的 DNA 会受到酸性水解作用的影响, 如需长期保存, 推荐用 Buffer GE 洗脱并于 -20 $^{\circ}$ C 保存。