

植物基因组DNA提取试剂盒 Plant Genomic DNA Extraction Kit

产品编号: C6205

保存条件: 室温干燥可保存一年, 4℃保存可更长时间。

产品介绍: **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。

产品组份

Buffer LP1: 25 ml (50T)

Buffer LP2: 10 ml (50T)

Buffer LP3 (concentrate): 21 ml (50T)

Buffer GW2 (concentrate): 15 ml (50T)

Buffer GE: 7.5 ml (50T)

RNase A (10mg/ml) : 300 µl (50T)

Spin Columns DM with Collection Tubes 50: (50T)

自备试剂

无水乙醇。

实验准备

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 加27ml无水乙醇和Buffer GW2 加45ml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℃水浴重新溶解。

操作步骤

1. 取植物新鲜组织100 mg左右或干重组织约20 mg, 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 µl Buffer LP1和6 µl 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 µl Buffer LP2, 混匀, 涡旋

震荡1分钟。

4. 12,000 rpm (~13,400×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 μl滤液加入750 μl 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 μl 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 μl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 μl 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°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 μl，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 μg，推荐用50 μl 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°C保存。