



新型植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

产品编号: NEP023-2

产品规格: 100T

产品简介:

本试剂盒适用于多种不同植物组织的基因组 DNA 的提取。对于多酚多糖的材料同样能提出质量较好的基因组 DNA。组织被裂解后, DNA, 蛋白等被释放出来, 在一定的条件下, 沉淀去除蛋白等杂质。纯化过的基因组 DNA 可以直接用作 PCR 模板、酶切、杂交等分子生物学实验。

组成:

成分	100 次	注意事项
β -巯基乙醇	260 μ l	
溶液 A	50 ml	室温低时可能有沉淀, 50 $^{\circ}$ C 加热溶解
溶液 B	44 ml	
溶液 C	26 ml	用前加入 104 ml 无水乙醇, 充分混匀
溶液 D	20 ml	

实验前试剂准备

溶液 C 中加入 104 ml 无水乙醇

储存条件:

本试剂盒所有试剂均可常温保存, 避免阳光、紫外线直射。

步骤:

1. 在 1.5 ml 离心管中加入 450 μ l 的溶液 A, 然后加入 β -巯基乙醇至终浓度为 0.5%。
2. 取植物新鲜组织 50 mg 或者干粉样品 30mg, 加入液氮充分研磨成粉末状。样品量不应超过 50 mg (干粉样品 30mg), 过多的样品使得裂解不充分, 最终会导致基因组 DNA 提取量减少且纯度低。
3. 将研磨好的粉末加到以上预备好的溶液 A 中, 65 $^{\circ}$ C 水浴 20~30 min, 其间颠倒混匀样品数次。
若需要去除 RNA, 水浴完后, 加入 10 μ l RNase, 混匀, 室温静置 5~10min。
4. 加入 400 μ l 溶液 B, 充分混匀, 12,000 rpm 离心 5 min。
若样品蛋白等含量非常高, 可使用 500 μ l 氯仿再抽提一次。
5. 小心将上清转到一个新的离心管中 (**勿将沉淀吸入, 若不小心吸到, 可再次离心去除沉淀**), 加入 600 μ l 异丙醇, 充分混匀, 室温放置 10min。
6. 12,000 rpm 离心 10 min, 小心去上清 (**勿将含 DNA 样品的沉淀倒出**)。
7. 加入 600 μ l 溶液 C, 颠倒混匀两次, 12,000 rpm 离心 5 min, 弃废液 (**勿将含 DNA 样品的沉淀倒出**)。
8. 重复步骤 7 一次。
9. 于室温或 37 $^{\circ}$ C 敞盖放置 5~10 min, 至无明显乙醇味。



10. 加入 30-200 μl 溶液 D，离心管中即为基因组 DNA 溶液。

纯化效果检测：

取 2-5 μl 得到的 DNA 产物，0.7% agarose 电泳检测 DNA 分子的完整性，紫外分光光度计检测浓度和纯度。

DNA 在 260 nm 处有吸收峰，检测时应该使 OD_{260} 值在 0.1~1.0，此时数值较准确， OD_{260} 为 1 时大概相当于 50 $\mu\text{g/ml}$ 双链 DNA，40 $\mu\text{g/ml}$ 单链 DNA。

核酸浓度 ($\mu\text{g/ml}$) = $\text{OD}_{260} \times 50 \times$ 稀释倍数。

$\text{OD}_{260}/\text{OD}_{280}$ 的值应该为 1.7~2.0。

常见问题分析：

常见问题	可能原因	建议
DNA 产量低 或没有 DNA	溶液 C 没有加无水乙醇	按说明书加入无水乙醇
	去除上清时不小心将含 DNA 样品的沉淀倒出	去上清时要小心仔细，勿将沉淀倒出
	样品过量	按照说明书说明加样，或者按照试剂比例增加试剂量
	样品裂解不完全	适当延长裂解时间
	样品不够新鲜	尽量使用新鲜样品
DNA 纯度低	消化不完全	样品量不要超过规定范围；延长消化时间，使样品充分消化
	取上清时，将沉淀引入	取上清时要小心，若不小心引入沉淀，可再离心一次去除
	洗涤不当	严格按照说明书步骤洗脱
	乙醇未除干净	适当延长晾干时间，使乙醇充分挥发。