多糖多酚植物基因组 DNA 提取试剂盒

货号	规格
AG503C	200 次

产品说明

适用范围:

多糖多酚植物 DNA 提取

试剂盒组分:

Buffer CA 100ml*2

Buffer FC 100ml*3

Buffer GW 33ml*2

Buffer GE 20ml

吸附柱 200 个

保存条件:

Buffer GE 4° C

其它组分室温保存

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 GW 中加入无水乙醇。使用前请 检查 Buffer CA 是否出现结晶或者沉淀,如有结晶或者沉淀,请将 Buffer CA 置于 65℃ 水浴重新溶解。

操作步骤

- 1. 取植物新鲜组织 50-200mg 左右,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1ml Buffer CA,涡旋振荡1分钟,65℃水浴30分钟,期间颠倒几次,使其充分裂解。
- 3. 将离心管转入离心机中 13,000×g 室温离心 3 分钟。
- 4. 小心吸取 800ul 上清到一个新的 2ml 离心管(自备),加入等体积的酚:氯仿:异戊醇=25:24:1 的混合液,涡旋振荡 1min,室温放置 5min。
- 5. $13,000 \times g$ 离心 3 分钟,小心吸取上清到一个 2ml 离心管(自备),注意不要吸到界面物质。
- 6. 加入 2 倍体积的 Buffer FC, 充分混匀(如 450ul 滤液加入 900ul Buffer FC)。

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

- 7. 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中,若一次不能加完溶液,可分多次转入。13,000×g 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. 向吸附柱中加入 500ul Buffer GW (使用前检查是否已加入无水乙醇), 13,000×g 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 500ul 无水乙醇,13,000×g 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。

9. 重复步骤 8。

- 10. 13,000×g 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)。
- 11. 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入 50ul Buffer GE 或灭菌水,室温放置 2-5 分钟,13,000×g 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;
- 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℃保存。