



植物基因组 DNA 小量提取试剂盒

Catalog No.	EM2202-01	EM2202-02
Size	20T	50T

简介

本试剂盒用于提取多种单子叶和双子叶植物或真菌类细胞基因组DNA。该试剂盒提供的方法简单易行，通过去垢剂处理和特殊的液体系统将裂解细胞后产生的DNA结合在柱材上，避免酚仿抽提。所获的基因组DNA具有完整性好、产量大、纯度高和稳定性好等特点。可以满足PCR、酶切、分子杂交和文库构建等各种分子生物学实验需要。

试剂盒组成<20 次><50 次>

离心柱及收集管各 20 个/50 个					
裂解液 PDL	15ml/30ml	沉淀液 PPS	5ml/10ml	缓冲液 PDB	5ml/11ml
蛋白清洗液 PWB	12ml/28ml	洗涤液 WB	20ml/20ml	洗脱液 EB	15 ml/15ml

需自备的试剂

无水乙醇，RNase A(25mg/ml)

保存条件及有效期

试剂盒保存在室温（15-30℃）。试剂如出现混浊或结晶，可以将试剂瓶置于55℃水浴加热，溶液变清亮后再使用。本试剂盒有效期为12个月。

操作步骤

所有离心步骤皆使用台式离心机，为室温下操作。

第一次使用前请先参考试剂瓶上的标签，在缓冲液PDB和洗涤液WB中加入无水乙醇。

1. 取新鲜植物组织100mg或干重组织20mg，加入液氮充分研磨，在化冻前将粉末转移到1.5ml离心管中。
2. 加入450μl经65℃预热的裂解液PDL，涡旋混匀使样品完全悬浮，加入5μl RNase A（25mg/ml），65℃水浴15分钟。温育期间可间或振荡离心管2~3次，保证裂解充分。
3. 12,000rpm离心5分钟。用宽口吸头转移上清到一个干净的1.5ml离心管中。
4. 加入150μl溶液沉淀液PPS，充分振荡混匀，冰水浴5 -10分钟，此时可见大量白色沉淀，12,000rpm离心10分钟。
(该步骤去掉去垢剂，大部分蛋白质和多糖类物质)
5. 用宽口吸头轻轻吸取大约400μl上清于一个干净的1.5ml离心管，尽量不要吸取沉淀，避免离心柱堵塞。
6. 加入600μl缓冲液PDB（使用前请先检查是否已经加入无水乙醇），充分混匀，此时可能会出现絮状沉淀。
7. 将离心柱装在收集管上，然后将所得的溶液及沉淀都转移入离心柱中。12000rpm离心1分钟，倒掉收集管中的滤液。

8. 加入500μl蛋白清洗液PWB，12,000rpm离心1分钟。倒掉收集管中的滤液。并将离心柱放回收集管中。
9. 加入500μl洗涤液WB，12,000rpm离心30秒。（使用前请检查是否已经加入无水乙醇）
10. 重复步骤9的操作一次。
11. 12,000离心1分钟，去掉离心柱中的所有液体。将离心柱放在一个干净的新的1.5ml离心管中，置于37℃烘箱放置5-10分钟，待管中的乙醇全部挥发为止。
12. 往离心柱中央悬空滴加经65℃水浴预热的100-200μl洗脱液EB。室温放置2分钟后，12,000rpm离心30秒，洗脱DNA到离心管中。为了得到更多的DNA，可以再加100-200μl洗脱液EB，室温放置2分钟后，再次洗脱DNA。
13. 取10μlDNA进行0.8%琼脂糖电泳检测提取DNA的完整性和质量。

注意事项

1. 选取材料时，尽量选取新鲜组织。植株的幼嫩部位如芽、幼叶、根尖和幼胚等处细胞分裂旺盛，次生物质较少，最适合提取DNA。
2. 有些植物如油松针叶，水分含量很低，经裂解液PDL处理，经离心后获得的上清不足450μl，可以用高压灭菌的TE补足。然后加入150μl PPS。
3. 为避免吹打引起DNA断裂，可以将普通吸头用剪刀切掉吸头前部制成宽口吸头高压灭菌后备用。
4. 吸附有DNA的离心柱不要在室温或37℃烘箱放置太久，以免降低洗脱效率。
5. RNase A配制：将称好的RNase A完全溶于10mmol/L TrisHCl (pH7.5)，0.15 mmol/L NaCl的溶液中，500μl每管分装到1.5ml离心管中。100℃煮10分钟。然后冷却至室温，-20℃保存备用。