

新型植物组织基因组DNA提取试剂盒

KD303 50次

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50次
RNase A (10mg/ml)	4°C	250 µl
缓冲液 AP1	室温	20 ml
缓冲液 AP2	室温	7 ml
缓冲液 AP3/E	室温	15 ml 第一次使用前加入30ml无水乙醇
漂洗液 WB	室温	13ml 第一次使用前加入52ml无水乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml
吸附柱 AC 和收集管 (2 毫升)	室温	50 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 缓冲液 AP1、AP3/E 低温时可能出现析出和沉淀, 可以在 65°C 水浴几分钟帮助重新溶解 (AP3 加入乙醇前可加热, 加入乙醇后不可加热), 恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化, 各溶液使用后应及时盖紧盖子。

产品介绍:

新鲜或干燥的植物组织 (细胞) 磨碎后经裂解液裂解; 蛋白质、多糖、细胞残片被沉淀去除; 然后基因组 DNA 在高离序盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜, 再通过一系列快速的漂洗 - 离心的步骤, 进一步将多糖, 多酚和细胞代谢物, 蛋白等杂质去除, 最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

产品特点:

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用特制吸附膜, 柱与柱之间吸附量差异极小, 可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 不需要使用有毒的苯酚等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
3. 快速, 简捷, 单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
4. 数种去多糖、多酚成份和多次柱漂洗确保高纯度, OD260/OD280 典型的比值达 1.7 ~ 1.9, 可直接用于 PCR, Southern-blot 和各种酶切反应。

注意事项

1. 所有的离心步骤均在室温完成, 使用转速可以达到 13, 000 rpm 的传统台式离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到 65°C 备用。
3. 缓冲液 AP3/E 中含有刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套, 避免沾染皮肤, 眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时, 要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 不同来源的植物组织材料中提取 DNA 的量会有差异, 一般 100 mg 新鲜组织典型产量可达 3 - 25 μ g。
5. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA, 不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱, 但应该确保 pH 大于 7.5, pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20°C。DNA 如果需要长期保存, 可以用 TE 缓冲液洗脱 (10 mM Tris-HCl, 1 mM EDTA, pH 8.0, 但是 EDTA 可能影响下游酶切反应, 使用时可以适当稀释。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

- ⇒ 第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇, 充分混匀
 - ⇒ 第一次使用前请先在缓冲液 AP3/E 中加入指定量无水乙醇!
1. 取适量植物组织 (新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg, 可适当多取一些样品弥补粘在研钵上的损失) 在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。研磨前, 可准备一个 1.5 ml 离心管, 加入 400 μ l 缓冲液 AP1 和 4 μ l RNase A(10 mg/ml)室温备用。
 2. 转移细粉 (新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg) 到前面准备的 1.5 ml 离心管 (已加入 400 μ l 缓冲液 AP1 和 4 μ l RNase A(10mg/ml))旋涡振荡, 充分混匀帮助裂解。

3. 65°C 水浴 10 min, 在水浴过程中可颠倒离心管 2-3 次, 混合样品。注意: 此步骤也可室温放置 10 min, 但是 65°C 水浴 10 min 产量更高。
4. 加入 130 μ l 缓冲液 AP2, 涡旋振荡混匀 1min, 冰上放置 5min, 13,000 rpm 离心 5 - 10 min, 小心吸取上清到一个新的 1.5 ml 离心管, 注意不要吸到界面物质。此步骤可以去除蛋白、多糖、等各种杂质。
5. 计算上清量, 加入 1.5 倍体积的 AP3/E (请先检查是否已加入无水乙醇!), 立即振荡混匀。加入 AP3/E 可能会出现絮状沉淀, 但不影响 DNA 提取。注意将 AP3/E 直接加入到上清并立即吹打或者振荡混匀。
6. 将上一步所得混合物 (包括可能出现的沉淀) 加入一个吸附柱 AC 中, (吸附柱放入收集管中) 13,000 rpm 离心 30 - 60 sec, 倒掉收集管中的废液 (先加 650 μ l 离心, 弃废液, 再加入剩余的溶液, 再次离心)。
7. 加入 600 μ l 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 13,000 rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。
8. 重复一遍操作步骤 7。注意: 如果吸附柱膜还呈现较多绿色色素, 可添加一步漂洗, 向吸附柱 AC 中加入 500 μ l 无水乙醇, 13,000 rpm 离心 30 sec, 弃掉废液。
9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中, 13,000 rpm 离心 2 min, 尽量除去漂洗液, 以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 取出吸附柱 AC, 放入一个干净的离心管中, 在吸附膜的中间部位加 50 - 100 μ l 洗脱缓冲液 EB, 室温放置 3 - 5 min, 13,000 rpm 离心 1 min。将得到的溶液重新加入吸附柱中, 室温放置 2 min, 13,000 rpm 离心 1 min。洗脱体积越大, 洗脱效率越高, 如果预计和需要产量高, 可增大洗脱体积, 如果需要 DNA 浓度较高, 可以适当减少洗脱体积, 但是最小体积不应少于 30 μ l, 体积过小降低 DNA 洗脱效率, 减少 DNA 产量。
11. DNA 可以短时存放在 2-8°C, 如果要长时间存放, 可以放置在 -20°C。