

描述: 该试剂盒采用独特的裂解液, 可快速可靠的从多糖、多酚含量较高的植物组织样品中纯化出高纯度的 DNA。应用本试剂盒提取的 DNA 可直接用于限制性酶切反应、PCR、文库构建、Southern 杂交等多种分子生物学实验。

组分

名称	数量
Plant AP1	35 ml
Plant AP2	12.5 ml
Plant LB3	25 ml
Washing Buffer (已含乙醇)	55 ml
蛋白酶 K (20 mg/ml)	1 ml
Rnase A (20 mg/ml)	0.25 ml
DNA Elution Buffer	10 ml
吸附柱	50 套
收集管	50 个

注意事项:

- (1) 本试剂盒中的 Washing Buffer 中已经加乙醇, 无需单独添加。
- (2) 蛋白酶 K 和 Rnase A 长期保存请储存于-20℃, 短期室温保存 (6 个月), 其它组分储存于室温。
- (3) Plant AP2 含有 CTAB, 室温储存会出现白色沉淀, 使用前放置于 56℃ 水浴锅中溶解后使用。
- (4) 自备试剂: 氯仿。

操作方法

(1) 样本组织悬液制备

研钵研磨法: 在 1.5 ml EP 管中加入 600 μ l 的 Plant AP1 裂解液, 并在管盖上加入 5 μ l 的 Rnase A。将研磨后的植物组织 (干重 40~60 mg, 湿重 150 mg) 加入到 Plant AP1 裂解液中, 漩涡震荡混合 15s。

钢珠研磨法: 在研磨 EP 管中加入 700 μ l 的 Plant AP1 裂解液, 加入植物组织 (干重 50~80 mg, 湿重 200 mg), 并加入钢珠进行研磨, 研磨完毕后, 取 600 μ l 的组织悬液到新的 1.5 ml EP 管中, 并在管盖上加入 5 μ l 的 Rnase A。

(2) 向上述组织悬液中加入 250 μ l Plant AP2 裂解液, 漩涡混合 15s, 56℃ 水浴锅 (或室温) 静置 5min, 以消化 RNA。

(3) 向上述溶液中加入 20 μ l 蛋白酶 K, 漩涡混合 10s, 于 56℃ 水浴锅 (或室温) 中消化 5~15min。

(4) 13,000rpm 离心 5min, 吸取 600 μ l 上清到新的 1.5ml EP 管中, 并加入 500 μ l 的氯仿, 漩涡混合 15s。

(5) 13,000rpm 离心 2min, 溶液将分为无色上层水相 (DNA)、中间层 (蛋白) 和绿色下层油相 (酚类)。

(6) 吸取 400 μ l 上层无色上清液到新的 1.5 ml EP 管中, 并加入 450 μ l 的 Plant LB3 溶液, 漩涡 10s 后, 倒入到吸附柱中, 13,000rpm 离心 1min。

(7) 倒掉废液。向吸附柱中加入 500 μ l Washing Buffer, 13,000rpm 离心 15s。重复此步骤一次。

(8) 将吸附柱重新放回离心机, 13000rpm 空离心 2min, 将残留的乙醇彻底甩干。

(9) 将吸附柱芯放入到 1.5 ml 收集管中, 向吸附柱芯中加入 60~150 μ l DNA Elution Buffer, 室温放置 1min, 13,000rpm 离心 1min, 洗脱液即为基因组 DNA, 冷冻保存。