

纯化效果检测:

取 2-5 μ l 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。

OD₂₆₀ 为 1 时大概相当于 50 μ g/ml 双链 DNA, 40 μ g/ml 单链 DNA。

核酸浓度 (μ g/ml) = OD₂₆₀ × 50 × 稀释倍数。

OD₂₆₀/OD₂₈₀ 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。 |



TEL:010-89756825

FAX:010-89756821

<http://www.dingguo.com>

Email:dgbio@dingguo.com

Toll-free:800-810-5636

新型植物基因组 DNA 快速提取试剂盒

50 T

北京鼎国昌盛生物技术有限责任公司

BEI JING DINGGUO CHANGSHENG BIOTECHNOLOGY CO.LTD

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 | 50 次 | 注意事项 |
|---------------|-------------|--------------------------------|
| β -巯基乙醇 | 130 μ l | |
| 溶液 A | 25 ml | 室温低时可能有沉淀，50 $^{\circ}$ C 加热溶解 |
| 溶液 B | 22 ml | |
| 溶液 C | 13 ml | 用前加入 52 ml 无水乙醇，充分混匀 |
| 溶液 D | 10 ml | |

实验前试剂准备

溶液 C 中加入 52 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 20min-45min，其间每隔 5min 颠倒混匀样品一次。
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，常温静置 5 min，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 μ l 溶液 D，离心管中即为基因组 DNA 溶液。