



中科瑞泰（北京）生物科技有限公司

Tel: 400-699-0631

[http:// www.real-tims.com.cn](http://www.real-tims.com.cn)

E-mail: real-times@163.com

RealPure 植物基因组 DNA 提取试剂盒 (目录号: RTG2404)

● 试剂盒内容及保存:

试剂盒组成	RTG2404-01 (50 次)	贮存方式
缓冲液 AP1	25 ml	室温
缓冲液 AP2	10 ml	室温
缓冲液 AP3(浓缩液)	15 ml	室温
漂洗液 PW (浓缩液)	25 ml	室温
洗脱缓冲液 EB	15 ml	室温
RNase A (10 mg/ml)	0.5 ml	-20℃
吸附柱 CG (白色)	50 个	室温
过滤柱 CF	50 个	室温
收集管	100 个	室温
说明书	1 份	

● 储存条件和效期:

本试剂盒在室温(25℃左右)干燥条件下,可保存 1 年;更长时间的保存可置于 2-8℃。2-8℃ 保存条件下,若溶液产生沉淀,应在使用前置于 37℃ 下溶解沉淀至溶液澄清后再使用。单独包装的 RNaseA 收到后-20℃ 保存。

● 产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,能提取多种植物细胞/组织中的基因组DNA。离心吸附柱可以高效、专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。

使用本试剂盒回收的 DNA 可适用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等实验。

● 提取得率:

材料	DNA 得量 (µg/100mg)
Arabidopsis	3-4 µg
Barley	8-12 µg
Maize	15-20
Pine	20-25
Potato	4-6
Rape	2-4
Spinach	5-10

Tobacco	20-25
Wheat	25-30

● 准备工作:

1. 准备液氮; 65℃水浴; 无水乙醇; 1.5ml 灭菌离心管。
2. 按照标签所示在缓冲液 AP3 和漂洗液 PW 中加入无水乙醇, 混匀后盖紧瓶盖后室温贮存备用。
3. 每次使用前请检查缓冲液 AP1, 缓冲液 AP2 和缓冲液 AP3 是否有沉淀生成, 如果出现沉淀, 37℃温浴至沉淀溶解后再使用。

● 操作步骤:

如非指出, 所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1. 取适量植物新鲜组织 0.5-1g 加入液氮充分研磨, 取约 100mg 粉末置于 1.5ml 离心管中, 加入 400 μ l 缓冲液 AP1 和 6 μ l RNaseA (10mg/ml), 漩涡震荡 1 分钟。
2. 将离心管放在 65℃水浴 10 分钟, 水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。
3. 加入 130 μ l 缓冲液 AP2, 颠倒混匀, 冰浴 5 分钟。
4. 12,000rpm 离心 5 分钟。

注: 此步骤离心去除去垢剂, 蛋白以及多糖等杂质。

5. 取上清 (通常为 400 μ l) 转移到过滤柱 CF 中, 12,000rpm 离心 1 分钟。
6. 将滤出液转移到 1.5 ml 离心管中, 加入 1.5 倍体积 (例如 400 μ l 的上清液加 600 μ l 缓冲液 AP3) 缓冲液 AP3 (使用前请注意是否已经加入无水乙醇), 立即颠倒混匀, 简短离心以去除管盖内壁的水珠。
7. 吸取步骤 6 中的混合液加入到吸附柱 CG 中 (吸附柱放入收集管中), 12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉废液, 吸附柱 CG 放回收集管中。

注: 离心吸附柱的最大容积是 700 μ l, 如果一次不能完全上柱, 可以分次上柱离心, 保证全部溶液全部加到离心柱中。

8. 向吸附柱 CG 中加入 500 μ l 漂洗液 PW (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉废液, 吸附柱 CG 放入收集管中。
9. 重复步骤 8。
10. **可选步骤:** 如果离心柱的吸附膜上有颜色, 向吸附柱 CG 中加入 500 μ l 无水乙醇, 12,000 rpm 离心 1 分钟, 倒掉废液, 吸附柱 CG 放入收集管中。
11. 将吸附柱 CG 放回废液收集管中, 12,000 rpm 离心 2 分钟。

注: 此步骤非常重要, 目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除。漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR 等) 实验。

12. 将吸附柱 CG 转入一个干净的 1.5ml 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 50-100 μ l 经 65℃水浴预热的洗脱缓冲液 EB, 室温放置 2 分钟, 12,000 rpm g 离心 2 分钟。

注: 1. 洗脱缓冲液体积最好不少于 50 μ l, 体积过小影响回收效率。

2. 洗脱液的 pH 值对于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 范围内, pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。

13. DNA 产物-20℃保存。

● DNA 浓度及纯度检测:

基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。提取的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。可配制 0.8-1.0% 琼脂糖凝胶, 使用 λ HindIII 判断基因组的大小, 完整的基因组大小应在 23kb 以上。使用分光光度计检测时, OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9 之间, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用去离子水洗脱, 比值可能偏低, 但并不表明 DNA 纯度不高。