

棉花基因组 DNA 快速提取试剂盒 使用说明书

产品编号：DE331

储存条件：常温保存，保质期 1 年。

产品内容：

| 产品内容 | DE331-50T |
|-------------|-----------|
| 裂解液 I | 40 mL |
| 纯化液 II | 20 mL |
| 结合液 III | 50 mL |
| 洗涤液 | 50 mL |
| 洗脱液 (TE) | 10 mL |
| 硅胶膜 DNA 吸附柱 | 50 套 |
| 说明书 | 1 份 |

产品介绍：

Coolaber 棉花基因组 DNA 快速提取试剂盒不含巯基乙醇等刺激性试剂，对于人体无害。

提取的 DNA OD_{260/280} 一般在 1.8 以上，纯度高，不含污染和抑制剂，可以直接用于酶切、PCR、real-time PCR、multiplex PCR、RAPD、RFLP、AFLP、Southern Blotting, microsatellite analysis 等各种后续分子生物学实验。

本试剂盒可以有效去除棉花叶片中的多糖多酚，适用于其他多糖多酚含量高的植物样品，水亦适用于其他常见植物样品。

注意事项：

1. **裂解液 I** 和**纯化液 II** 容易产生沉淀，**纯化液 II** 比较粘稠，用前均需要放置在 65°C 预热使沉淀溶解、粘稠度降低，用前充分摇匀。

2. **自备试剂**：氯仿。

(一) **样品裂解**：

1. 液氮研磨

- a. 称取棉花叶片 0.1-0.5 g 左右，剪成微小的碎片，于液氮研磨后将粉末转移至 1.5 mL 的离心管中。
- b. 在上述离心管中加入 0.75 mL 的经过 65°C预热的**裂解液 I**。

(二) 样品纯化:

1. 在**步骤（一）**所得的裂解产物中加入 0.5 倍体积预热的**纯化液 II**，颠倒数次混匀。此时溶液中可能有白色丝状悬浮物产生。（由于**纯化液 II** 比较粘稠，可以将 1 mL 枪头剪去一截再吸取）。
2. 65°C水浴 3-5 分钟。如果室温放置，DNA 产量会降低 10-20%。
3. 加入 200 uL 自备氯仿，震荡混匀 10-30 秒。
4. 12,000 rpm 室温离心 2 分钟。此时上清液将变得透明，中间层有白膜。小心转移上清液到一个新的 1.5 mL 塑料离心管中，避免触及中间层的白膜。

(三) 基因组 DNA 收集:

1. 在**步骤（二）**所得的上清中加入 1.5 倍体积的**结合液 III**，颠倒数次混匀后，分多次上同一 DNA 吸附柱，每次上柱后均先室温放置 2 min，然后 12,000 rpm 离心 1 min，倒掉穿透液。
2. 在吸附柱中加入 500 μ L 洗涤液，12,000 rpm 离心 1 min，弃穿透液。
3. 再将吸附柱 12,000 rpm 离心 30 s 以甩干乙醇。
4. 将吸附柱放入一个干净的 1.5 mL 离心管中。在吸附柱中央加入 50 μ L 洗脱液（65-70°C预热），室温静置 5 min。12,000 rpm 离心 2 min。将穿透液重新加入吸附柱中央，12,000 rpm 离心 1 min 以洗脱更多基因组 DNA。
5. 检测 DNA 质量。将所得的基因组 DNA 保存于-20°C 冰箱。