

版本号: DP121221

GMO Crop Extraction & Amplification Kit

GMO作物提取检测试剂盒（A部分）

（非离心柱型）

目录号: KG202

产品内容

产品组成	KG202 (200 preps)
缓冲液PL (Buffer PL)	160 ml
RNase A (100 mg/ml)	1.25 ml
洗脱缓冲液TE (Buffer TE)	2×15 ml

储存条件

该试剂盒置于室温（15-25℃）干燥条件下，可保存12个月。

产品简介

本产品是特别针对GMO作物PCR检测所开发的试剂盒。试剂盒包括A、B两部分，试剂盒A部分提供对GMO作物基因组DNA提取的试剂，试剂盒B部分提供对GMO作物DNA进行PCR检测的试剂。

试剂盒A部分所含有的独特裂解液可针对性地将小麦、玉米、水稻、棉花和大豆五种主要作物的组织充分裂解，释放出核酸、蛋白质等相关组分，后续通过特效的RNA酶和酚/氯仿抽提可以最大限度的将RNA、蛋白质、金属离子等杂质除去，获得纯度和得率均良好的基因组DNA，以便于后续的PCR检测。

产品特点

适用性广：可对五大主要GMO作物进行高质量基因组DNA的提取。

简单快速：可在2 h内完成GMO作物基因组DNA的提取。无需大型冷冻离心机，对仪器设备要求较低，适于各级研究机构对GMO作物进行快速基因组DNA提取。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
 2. 建议采用新鲜叶片作为提取对象，基因组DNA得率和纯度易达到最佳水平。
 3. 所有的离心步骤都为使用台式离心机在室温下进行。
 4. 缓冲液PL在使用前请加入巯基乙醇，使巯基乙醇的终浓度为0.1%（V/V）。
-

操作步骤

1. 取植物新鲜组织约100 mg或干重组织约30 mg，加入液氮充分碾磨。
2. 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有700 μ l 65 $^{\circ}$ C 预热缓冲液PL的离心管中（实验前在预热的缓冲液PL中加入巯基乙醇，使其终浓度为0.1%），迅速颠倒混匀后，将离心管放在65 $^{\circ}$ C水浴20 min，水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。
3. 将离心管取出，轻用以收集管盖及管壁上的液滴，加入6 μ l RNase A（100 mg/ml），混匀，室温放置10 min。
4. 加入等体积苯酚:氯仿:异戊醇（25:24:1），充分混匀，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心5 min。

注：若提取富含多酚或淀粉的植物组织，可再用等体积酚:氯仿(1:1)进行二次抽提。

5. 小心地将上一步所得上层水相转入一个新的离心管中，加入等体积异丙醇，充分混匀。
6. 12,000 rpm(~13,400 \times g)离心5 min。
7. 倒掉上清，加入500 μ l 70%乙醇，充分混匀。
8. 12,000 rpm(~13,400 \times g)离心5 min。
9. 重复步骤7、8。
10. 将离心管倒置在干净的吸水纸上至乙醇挥发干净，确保沉淀在离心管中。

注意：乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。但是要避免过分干燥DNA沉淀，因为过于干燥的DNA很难溶解。

11. 加入100 μ l洗脱缓冲液TE进行DNA溶解，适当条件保存。

注意：如果DNA溶解缓慢，可65 $^{\circ}$ C加热10-30 min加速溶解。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组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。回收得到的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。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 μg/ml双链DNA、40 μg/ml单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。
