

ISOPLANT

从植物·酶·细菌提取 DNA 试剂盒

使用 ISOPLANT 提高回收量的方法

- 将实验材料切成小块

册子写有切成 3~5mm 小块。切得更小提取率会更高。

- 50°C、15 min.的孵化时进行倒转混合

在此步骤进行时多次倒转混合，回收量会大幅提高。

- 减少实验材料的量

将实验材料分配至多支离心管，减少单支离心管实验材料量。

- 增加 Solution I、II、III 使用量

处理 0.1g 实验材料时，Solution I、II、III 的使用量可以比册子说明的量多。根据实验材料的种类，所需的量不相同，请根据离心管容量范围内进行操作。

- 扩增容量

使用大容量离心管进行扩增容量。试剂量比率保持不变。但是，大容量离心管无法像小容量 1.5ml 离心管那样进行高速离心（由于强度问题等）。Nippon Gene 公司进行了实验，结果表明 C 公司生产的最大容量离心管为 15ml，用其成功进行离心（3000~4500 x g），同样地，使用 50ml 离心管也离心成功（1000~1500 x g）。安全起见，离心时，15ml 离心管应为 3000 x g，50ml 离心管应为 1000 x g。此外，由于回转次数较低，请加长离心时间。

- 延长 50°C、15min.孵化，并提高温度

孵化时间延长至 20min.、30min.。若延长至 45min.，个别样品会出现弥散，若实验材料的量充裕，可适当地设定多种条件进行探讨。实验证明，从革兰氏阳性菌提取 DNA 时，将温度提高至 65°C，回收量有所增加。

- 乙醇沉淀时进行冷却

册子写有添加冷却至 -20°C 的乙醇后立即进行离心。添加乙醇后，冷却再静置，可提高 DNA 的回收率。但也有杂质一起沉淀的可能性。

- 尽量使用新鲜的实验材料

使用 ISOPLANT 对放置了一周左右后经干燥的稻谷进行处理，DNA 的回收率大幅度下降，尽量使用新鲜的实验材料。

- 使用液氮冷冻后捣碎

若实验材料是细胞壁较厚的细胞(霉菌、革兰氏阳性菌等)，细胞难以破裂，提取效率较低。请使用液氮冷冻后，捣碎细胞。此外，实验证明，使用 ISOGEN 可从革兰氏阳性菌提取 RNA，可使用玻璃珠。但是，DNA 分子比 RNA 分子大，受到物理破坏后较容易被切断。（此状态下的 DNA 可用作 PCR 的模板）。此外，从果树的嫩叶提取 DNA 的难度也比较大，亦可使用此方法。