

Q&A 植物基因组提取常见问题

Q 基因组提取样本得率/纯度不高

A-1 样本不够新鲜，或经过了反复冻融。这会导致DNA在样本内部就已经开始降解，或者样本内存在大量核酸酶使得核酸边处理边降解。

A-2 DNA吸附不充分。在上柱前，裂解物中没加乙醇，或用低浓度乙醇代替无水乙醇。

A-3 洗脱缓冲液pH值偏低。调pH值到8.0-8.3。

A-4 提取时操作过于激烈，导致基因组断裂。

Q DNA影响后续酶反应实验

A 乙醇或金属离子残留，导致酶反应缓冲液缓冲能力下降。

Q RNA提取得率/纯度不高

A-1 裂解或匀浆处理不充分。

A-2 样品不够新鲜或样品量超出了裂解液所能处理的极限。

A-3 操作时无RNase酶处理不彻底

A-4 RNA本身含量低，需用Carrier RNA捕获。

Q 植物基因组提取有哪些常见裂解液。

A CTAB法：十六烷基三甲基溴化铵，是一种阳离子去污剂，可溶解细胞膜，并与核酸形成复合物。通过有机溶剂抽提，去除蛋白、多糖、酚类等杂质后加入乙醇沉淀即可分离核酸。适用于多糖多酚的植物组织、真菌等。

SDS法：SDS（十二烷基硫酸钠）阴离子去垢剂，可促使细胞裂解，使蛋白变性染色体离析。适用于血液、细胞、动物组织、细菌、酵母等。

Q 植物样本破碎方法有哪些

A 液氮研磨：最常见的裂解方法，优点是可以处理多种样本，对样本起始量没有要求。但会造成样本损失，回潮后降解几率增加。

钢珠震荡：适用于大批量操作，一次可操作多个样本。缺点是对样本的破碎不彻底，对于某些根、茎等难以破碎的样本很难破碎。

电动研磨：可以快速，清洁，高效破碎各类植物组织，破碎在裂解液中进行，显著降低降解风险。缺点是对样本的起始量有要求，无法做到大批量破碎。