

SolPure Plant HW DNA Kit

溶液型植物高分子量 DNA 试剂盒

SolPure Plant HW DNA Kits 为植物组织 DNA 抽提提供一种安全快速的解决方案。试剂盒基于 CTAB/氯仿预处理方式和经济的醇类沉淀，整个提取过程只需 30 分钟。得到的 DNA 可直接用于 PCR, SSR, AFLP, RAPD, 以及 Southern blot 等实验。

产 品 组 份

产品编号	D3317-01B	D3317-02B	D3317-03B
纯化次数	10 次	50 次	250 次
Buffer PAL	40 ml	180 ml	2 x 400 ml
Buffer PVP(40%)	1.8 ml	10 ml	40 ml
2-巯基乙醇	1.8 ml	10 ml	40 ml
酚氯仿异戊醇	40 ml	2 x 100 ml	4 x 200 ml
Buffer BCP(氯仿替代物)	12 ml	60 ml	300 ml
RNase Solution	360 ul	1.8 ml	8.5 ml
Buffer TE	15 ml	20 ml	120 ml
说明书	1	1	1

保 存 条 件

本产品室温(15~25℃)室温下运输，收到产品生把 RNase A Solution, 酚氯仿异戊醇, Buffer BCP, Buffer PVP(40%)保存 2-8 度，有效期为 18 个月。低温下，Buffer PAL 可能会有沉淀形成，需 65℃水浴让沉淀完全溶解。

准 备 事 项

- 70%乙醇
- 异丙醇

实验步骤

1. 准备裂解液：在 15ml 离心管中，加入 3.0ml Buffer PAL、0.15ml Buffer PVP(40%)和 50 μ l 2-巯基乙醇，颠倒混匀后，65℃水浴进行预热。

由于 2-巯基乙醇气味太大，大部分常规样品无需添加，处理复杂的多酚性样品时 2-巯基乙醇可以提高至 150 μ l。

2. 用液氮把植物/真菌样品研磨成粉末，转移 250~500mg 新鲜/冻藏样品或 100~200mg 干燥样品至装有 Buffer PAL 的离心管中，立即涡旋 10 秒使样品充分分散，65℃水浴 10 分钟，期间混匀 2~3 次。

若涡旋后还有明显团状物不能打散，把移液枪头剪去一部分，吸打混匀几次打散样品。

3. 加入 3ml Buffer PCI (酚氯仿异戊醇)，上下颠倒混匀 15-20 次。室温下，3,000~5,000 $\times$ g 离心 5 分钟。

4. 小心转移上清液至另一个新的 15ml 离心管中，加入 30 μ l RNase Solution，颠倒混匀，室温放置 20 分钟降解 RNA。

5. 加入 1ml Buffer BCP 或氯仿，上下颠倒混匀 15-20 次。室温下，3,000~5,000 $\times$ g 离心 5 分钟。

Buffer BCP 为氯仿代替物，主要成分为更低毒性的溴氯丙烷。皮肤接触时，立即脱去污染衣着，用大量流动清水冲洗，就医。

6. 小心转移上清液至另一个新的 15ml 离心管中。加入 0.7 倍体积的异丙醇，上下缓慢颠倒混匀 15-20 次。室温下，3,000~5,000 $\times$ g 离心 5 分钟。倒弃上清液，离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。

这一步若有明显的丝状或团状的 DNA 沉淀，用枪头或灭菌牙签挑出 DNA 沉淀，并在 1~3ml 70% 乙醇浸泡 1 分钟后，转移出来后干燥 3 分钟，按第 9 步操作。

7. 加入 3ml 70%乙醇至 DNA 沉淀中，颠倒混匀 10~15 次。室温下，3,000~5,000 x g 离心 5 分钟。小心倒弃上清液，把离心管反扣于吸水纸吸干残留的溶液。
8. 短暂离心收集管壁上的液滴，小心吸尽残液。空气干燥 10 分钟。
9. 加入 150~250µl Buffer TE 至 DNA 沉淀团中，2-8℃ 放置过夜溶解 DNA，其间轻轻振荡混匀让 DNA 加速溶液。
若 DNA 粘在牙签上时，剪去多余部分，让粘有 DNA 的部分完全浸泡到 Buffer TE，盖上盖子，2-8℃ 放置过夜后，轻轻振荡后去除牙签。
10. 把 DNA 保存于 2-8℃ 或 -20℃。

常见问题

1. DNA 产量低

- **样品裂解不充分：**用液氮将样品研磨细小的粉末状。加入 Buffer PAL 后，没有让样品充分分散。若涡旋无法让样品充分分散时，可用移液枪吸打几次打散样品。
- **样品富含多酚类物质：**加入 2-巯基乙醇至 Buffer PAL，以提高裂解液的抗氧化能力。
- **样品用量太多：**处理某些样品时，减少样品量有利于提高产量。初次实验时，推荐使用 50mg 新鲜或 15mg 干燥样品，根据实验结果再调整样品用量。
- **加入异丙醇后混匀不充分：**加入异丙醇后，须颠倒混匀 30-50 次，或直至看到丝状的沉淀。

2. DNA 纯度不达标

- **样品富含多糖类物质：**加入 2-巯基乙醇至 Buffer PAL 中，有利于提高纯度。
- **样品用量太多：**减少样品量有利于提高纯度。