

SolPure Plant DNA Kit

溶液型植物 DNA 试剂盒

SolPure Plant 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 SDS/KAC 预处理方式和经济的醇类沉淀，适合于从 $\leq 100\text{mg}$ 新鲜/冻藏植物样品， $\leq 30\text{mg}$ 干燥植物/种子样品提取高纯度的总 DNA，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	D3164-01B	D3164-02B	D3164-03B
纯化次数	50 次	250 次	1000 次
Buffer SPL	33 ml	180 ml	2 x 350 ml
Buffer PS	15 ml	60 ml	220 ml
RNase A	10 mg	45 mg	180 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml	20 ml
Buffer TE	15 ml	30 ml	120 ml
说明书	1	1	1

保 存 条 件

本产品室温(15~25℃)可保存 18 个月。低温下，Buffer SPL 可能会有沉淀形成，需 65℃ 水浴让沉淀完全溶解。RNase A 室温运输和保存，长期贮藏(>3 个月)建议保存于-20~8℃。

准备事项

- 75%乙醇
- 异丙醇
- 溶解 RNase A (15mg/ml): 加入 0.67ml/3.0 ml/12.0ml Protease Dissolve Buffer 溶解 RNase A 至终浓度为 15mg/ml, 颠倒混匀让 RNase A 充分溶解。RNase A 干粉可在室温下保存, 但溶解的 RNase A 须保存于 2~8℃。

实验步骤

样品裂解

1. 用液氮把植物样品研磨成粉末, 转移 $\leq 100\text{mg}$ 新鲜/冻藏样品或 $\leq 20\text{mg}$ 干燥样品至 1.5 ml 离心管中。

除液氮研磨外, 也可以将用珠磨仪(如 FastPrep-24, 2010 Gene Grinder)或机械匀浆器进行匀浆。由于植物样品代谢物质含量差别很大, 初次使用时, 推荐起始用量为 50mg 新鲜样品或 10mg 干燥样品。

2. 立即加入 600 μl Buffer SPL 和 8 μl RNase A, 最高速度涡旋 10~15 秒使样品充分分散, 65℃ 放置 15 分钟。

使用前按 1ml Buffer SPL 加入 20 μl 2-巯基乙醇, 提高裂解液抗氧化的能力。

去除蛋白质

3. 加入 200 μl ml Buffer PS, 涡旋混匀 10 秒, 冰上放置 10 分钟。13,000-16,000 $\times g$ 离心 5 分钟。

离心后会形成紧密的蛋白沉淀。若沉淀不紧密, 涡旋混匀 10 秒, 冰上放置 5 分钟。重复此步离心去除蛋白质。

沉淀 DNA

4. 转移上清液至新的 1.5ml 离心管中，加入 0.7 倍体积异丙醇的，颠倒离心管 20-30 次或直至看到丝状或团状的 DNA 沉淀。13,000-16,000 × g 离心 3 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。倒弃上清液时要注意 DNA 沉淀，不要倒掉沉淀。

乙醇脱盐和干燥

5. 加入 600μl 75%乙醇至 DNA 沉淀中，涡旋混匀 5 秒，13,000-16,000 × g 离心 3 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。倒弃上清液时要注意 DNA 沉淀。不要倒掉沉淀。
6. 重复第 5 步一次。

溶解 DNA

7. 短暂离心收集管壁上的液滴，吸弃所有残液，空气干燥 5~10 分钟。
8. 加入 30~100μl Buffer TE 至 DNA 沉淀团中，涡旋 5 秒。65℃温育 10~60 分钟溶解 DNA。室温或 2-8℃放置过夜使 DNA 充分溶解。把 DNA 保存于 2-8℃或-20℃。

(可选)重沉淀去除 RNA

9. 加入 Buffer TE 或灭菌水至 DNA 样品中，调整总体积为 500μl。加入 2μl RNase A 至样品，混匀，室温放置 10 分钟消化 RNA。
10. 加入 50μl Buffer PS 至样品中，混匀。
11. 加入 400μl 异丙醇至样品中，颠倒混匀 10-15 次。13,000-16,000 × g 离心 3 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。
12. 加入 500μl 75%乙醇至 DNA 沉淀中，涡旋混匀 5 秒，13,000-16,000 × g 离心 3 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。倒弃上清液时要注意 DNA 沉淀。不要倒掉沉淀。
13. 短暂离心收集管壁上的液滴，吸弃所有残液，空气干燥 5~10 分钟。

14. 加入 30~100 μ l Buffer TE 至 DNA 沉淀团中，涡旋 5 秒。65℃温育 10~60 分钟溶解 DNA。
室温或 2-8℃ 放置过夜使 DNA 充分溶解。
15. 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 SPL 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 SPL，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。

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 SPL 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。