

RaPure Plant DNA Mini Kit

植物 DNA 快提试剂盒

RaPure Plant DNA Kits 为植物组织 DNA 抽提提供一种安全快速的解决方案。试剂盒基于硅胶柱纯化技术和 CTAB/氯仿预处理方式, 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, 无需进行耗时的醇类沉淀, 整个提取过程只需 30-50 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	D3187-01	D3187-02	D3187-03
纯化次数	20 次	100 次	250 次
HiPure DNA Mini Columns II	20	100	250
2ml Collection Tubes	20	100	250
Buffer PAL	15 ml	80 ml	200 ml
Buffer BDP	15 ml	80 ml	200 ml
Buffer GWP	15 ml	80 ml	200 ml
Buffer PW1	15 ml	60 ml	140 ml
Buffer PW2*	6 ml	20 ml	50 ml
Buffer AE	5 ml	15 ml	60 ml
说明书	1	1	1

版本:202401

保存条件

本产品室温(15~25°C)可保存 18 个月。收到产品后, 把 Buffer BDP 保存于 2-8°C。低温下, Buffer PAL 可能会有沉淀形成, 需 65°C 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- 无水乙醇(96-100%)
- 65°C水浴锅
- (可选)2-巯基乙醇和 PVP-40
- 按瓶子标签所示，用无水乙醇稀释 Buffer PW2，并于室温保存

实验步骤 A

1. 用液氮把植物/真菌样品研磨成粉末，转移 50~150mg 新鲜/冻藏样品或 15~40mg 干燥样品至 2ml 离心管中。

正确使用样品量才能获得理想结果。过量样品会造成柱子堵塞，而引起产量和纯度下降。由于植物样品 DNA 和代谢物质含量差异很大。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。处理富含粘液质丰富的样品时，建议样品用量不要超过 30~50mg(新鲜)。

2. 立即加入 700 μ l 预热至 65°C Buffer PAL 至样品中，剧烈涡旋使样品充分分散，65°C 水浴 20 分钟，期间混匀 2~3 次。

处理复杂样品时，加入 2-巯基乙醇(自配)至 Buffer PAL 中，终浓度为 0.1%(V/V)，极难提样品可加至 2%(V/V)，以提高裂解液的抗氧化能力。处理常规的简易经济作物，如水稻、玉米、番茄等可无需加入 2-巯基乙醇。由于 PVP-40 对该方案的产量影响极大，该流程不能加入 PVP。处理极易氧化植物样品，加入 PVP-40 有利于提高产量，按方案 B 进行操作。

3. 加入 700 μ l Buffer BDP 至样品中，涡旋混匀 10 秒。

处理富含多酚或淀粉的植物/真菌组织，可在第 3 步前，用酚:氯仿/1:1 进行等体积抽提。

4. 室温下，12,000 \times g 离心 5 分钟，小心转移上清液至新离心管中。

5. 加入 700 μ l Buffer GWP 至上清中，颠倒混匀 10~15 次。

6. 把 DNA 柱装在收集管中，转移一半体积混合液至柱子中。12,000 \times g 离心 60 秒。

7. 倒弃滤液把柱子装回收集管，把剩余混合液转移至柱子中。12,000 \times g 离心 60 秒。

8. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer PW1 至柱子。12,000 \times g 离心 60 秒。
9. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 500 μ l Buffer PW2 至柱子中。12,000 \times g 离心 60 秒。
10. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 300 μ l Buffer PW2 至柱子。12,000 \times g 离心 2 分钟。
取出柱子时不要颠倒或侧转，不要让柱子的底部碰到收集管中的液体。若碰到了液体，倒弃废液后，把柱子放回收集管中再离心一次甩干柱子。
11. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管中，加入 40~75 μ l 预热到 65 $^{\circ}$ C Buffer AE 至柱子的膜中央。
室温静置 2 分钟，12,000 \times g 离心 1 分钟。
12. 再加入 40~75 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 2 分钟。12,000 \times g 离心 1 分钟。丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

实验步骤 B

处理极易发生氧化的植物或真菌样品时，加入 PVP-40 至 Buffer PAL 中，终浓度为 2%(W/V)，颠倒使之充分溶解，该混合液室温放置时间不要超过 1 周。使用前，再加入 2-巯基乙醇(自配)至 Buffer PAL 中，终浓度为 0.1%(V/V)。

1. 用液氮把植物/真菌样品研磨成粉末，转移 50~100mg 新鲜/冻藏样品或 15~30mg 干燥样品至 2ml 离心管中。
正确使用样品量才能获得理想结果。过量样品会造成柱子堵塞，而引起产量和纯度下降。由于植物样品 DNA 和代谢物质含量差异很大。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。
2. 立即加入 700 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C Buffer PAL/PVP-40 至样品中，剧烈涡旋使样品充分分散，65 $^{\circ}$ C 水浴 15~30 分钟，期间混匀 1~3 次。
3. 加入 700 μ l Buffer BDP 至样品中，涡旋混匀 15 秒。室温下，12,000 \times g 离心 5 分钟。
处理富含多酚或淀粉的植物/真菌组织，可在第 3 步前，用酚:氯仿/1:1 进行等体积抽提。
4. 小心转移 560 μ l 上清液至新离心管中，加入 10 μ l RNase A(自配)至上清，混匀。室温放置 10 分钟消化去除 RNA。
5. 加入 560 μ l Buffer GWP 和 560 μ l 无水乙醇至上清中，颠倒混匀 10~15 次。按步骤 A 的第 6~12 步进行操作。

常见问题

1. 柱子堵塞

- **样品用量太多：**减少样品用量。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。
- **富含多糖类样品：**某些植物样品中含有丰富的粘液和高分子多糖，会让裂解液变得非常粘稠，减少样品用量或加大 Buffer PAL 的用量。
- **氯仿抽提不充分：**重新抽提，加入氯仿时一定要剧烈振荡混匀。充分混匀时，溶液变成均一的乳白状。

2. 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。
- **沉淀未充分打散：**加入 Buffer GWP/乙醇时，若产生絮状沉淀时，用移液枪吸打多次打散沉淀。
- **样品富含多酚类物质：**加入 PVP-40 和 2-巯基乙醇至 Buffer PAL，以提高裂解液的抗氧化能力。
- **试剂准备有误：**Buffer PW2 都需要按瓶子标签加入正确的乙醇。
- **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。

3. DNA 纯度不达标

- **样品富含多糖类物质：**加入 PVP-40 和 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。
- **富含色素的样品：**对于某些富含色素的样品，再用 500 μ l 无水乙醇洗涤柱子一次，以去除色素，提高 A260/230 的读数。