

## SolPure Plant DNA Mini 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。试剂盒基于硅胶柱纯化技术和 SDS/KAC 预处理方式，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也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	D3164-01B	D3164-02B	D3164-03B
纯化次数	50 次	250 次	1000 次
Buffer SPL	30 ml	150 ml	550 ml
Buffer PS	10 ml	50 ml	180 ml
RNase A	10 mg	45 mg	4 × 45 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	5 ml	20 ml
Buffer TE	15 ml	60 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

- 70%乙醇
- 异丙醇
- 溶解RNase A (15mg/ml): 加入0.67ml/3.0 ml 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 500 $\mu\text{l}$  Buffer SPL 和 10 $\mu\text{l}$  RNase A,** 高速涡旋使样品充分分散, 室温~65 $^{\circ}\text{C}$  放置 10 分钟。

可选: 使用前按 1ml Buffer SPL 加入 20 $\mu\text{l}$  2-巯基乙醇, 提高裂解液抗氧化的能力。

### 去除蛋白质

3. **加入 170 $\mu\text{l}$  ml Buffer PS, 涡旋混匀 15 秒。** 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 30 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 30-50 次或直至看到丝状或团状的 DNA 沉淀。 13,000-16,000  $\times g$  离心 2 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 600 $\mu$ l 70%乙醇至 DNA 沉淀中。颠倒或涡旋洗涤 DNA 沉淀。13,000-16,000  $\times$ g 离心 2 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 7 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 30~100 $\mu$ l Buffer TE 至 DNA 沉淀团中，涡旋 5 秒。65 $^{\circ}$ C 温育 10~60 分钟溶解 DNA。
9. 室温或 2-8 $^{\circ}$ C 放置过夜使 DNA 充分溶解。把 DNA 保存于 2-8 $^{\circ}$ C 或 -20 $^{\circ}$ C。

## 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 SPL 的用量。

### 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 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。

### 3. 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。