



Hpure Plant DNA Kit

Hpure 植物 DNA 提取试剂盒

产品简介

HpurePlant DNA Kit采用独特的裂解液能够有效除去多糖多酚等,能够从多种植物的不同样品中提取DNA, 特别适合于富含多糖多酚的植物与植物的样品。一次操作可以处理100mg湿组织或50mg干组织, 样品经裂解液消化, 氯仿分离除去大部分的多糖多酚, 再经GBC分离柱进一步纯化, 便可得到高纯度的DNA。所得的DNA可以用于PCR, Southern杂交, 酶切消化等实验。

试剂盒组成

产品编号	D5101	D5105	D5106	D5107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Buffer PL	4ml	35ml	70ml	70ml*2
Buffer PB	2ml	15ml	30ml	60ml
DNA Wash Buffer	2ml	13ml	26ml	26ml*2
RNase A	25 μ l	220 μ l	450 μ l	900 μ l
说明书	1	1	1	1

储存和稳定性

室温保存, 12个月内有效。Buffer PL与Buffer PB可能有沉淀产生, 37 $^{\circ}$ C水浴溶解后即可。RNase A常温运输,-20 $^{\circ}$ C保存。

实验前准备

请仔细阅读该手册并熟悉各个步骤, 在开始之前准备好所有的试剂盒组分和必需的器材。

浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释:

D5101 加8 ml; D5105加入52 ml ; D5106与D5107中每瓶加入104 ml 无水乙醇

操作步骤

- 液氮充分研磨新鲜或干燥的植物样品。
 - 收集研磨成粉末的植物组织, 新鲜组织约100mg (干燥组织约50mg), 置样品于1.5ml离心管中。
 - 加入600 μ l 65 $^{\circ}$ C预热的Buffer PL, 并加入10 μ l β -巯基乙醇剧烈地漩涡振荡, 确保所有的组织团都分散均匀。加入4 μ l的RNase A。
 - 65 $^{\circ}$ C水浴20min。水浴期间颠倒样品数次。
 - 加入600 μ l氯仿, 充分混匀, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心5分钟。
 - 小心地把上清液吸至另一新的小离心管中。注意确保不要打散沉淀团或把组织碎片也一起转移。
 - 加入二分之一上清体积的 Buffer PB与与等体积的无水乙醇, 充分混匀。如: 向300 μ l上清中加入150 μ l BufferFB与300 μ l无水乙醇。
 - 把上述混匀的液体转移到GBC分离柱上。10,000 \times g离心1 min以结合DNA, 弃去滤出液体。纯化柱最大容量为750 μ l,如果混合液大于750 μ l,请分两次过柱。
 - 将GBC吸附柱重新套回收集管中, 加入600 μ l DNA Wash Buffer至柱子中, 10,000 \times g离心1min, 倒弃流出液;
注意: DNA Wash Buffer使用前须按要求用无水乙醇稀释。如果放入冰箱中, 使用前须恢复到室温。
 - 再加入600 μ l DNA Wash Buffer至柱子中, 8,000 \times g离心1min,弃去流出液;
 - 将GBC吸附柱重新套回2ml收集管中, 最大转速 (>13,000 \times g) 离心空结合柱1min以干燥柱子的基质; 这一步对下面的洗脱步骤至关重要。
 - 将柱子置于1.5ml灭菌离心管, 加入50-150 μ l 65 $^{\circ}$ C预热的TE缓冲液至柱子的膜中央。室温静置5min;
 - 室温下, 离心(>13,000)1min, 以洗脱DNA。保留含DNA的流出液。将DNA储于-20 $^{\circ}$ C。
- 对低DNA含量的样品按如下操作:**
- 收集研磨成粉末的植物组织, 新鲜组织约400mg (干燥组织约200mg), 置于15ml离心管中。
 - 加入9ml 65 $^{\circ}$ C预热的Buffer PL, 并加入90 μ l β -巯基乙醇剧烈地漩涡振荡。
 - 65 $^{\circ}$ C水浴30-60min。水浴期间颠倒样品数次。
 - 加入4.5ml氯仿, 充分混匀, 3000 \times g离心10分钟。转移上清到新的15ml离心管中, 加入0.7倍的异丙醇, 3000 \times g离心10分钟。
 - 倒掉上清, 加入300 μ l的灭菌去离子水, 加入5 μ l RNase。65 $^{\circ}$ C水浴溶解DNA。
 - 以下操作按标准操作的第七步起操作。

可能出现的问题与对策

问题	可能原因	建议
堵柱子	转移裂解上清时，转移了沉淀	按说明书操作，氯仿分离后，确保不转移到沉淀
	样品太粘稠	样品量别超过说明书上所说的，或者增加 Buffer PB 的用量。
DNA 得率低	样品的破壁方式不对	不论新鲜还是干燥样品，在加入 Buffer PL 之前必须用适当方式的研磨成粉末。
	样品的裂解效果不好	减少样品量，或者增加 Buffer PL 的用量。
	DNA 残留在柱子上	增加洗脱液的用量，并在离心洗脱前 65℃ 孵育 5min。
	DNA 洗涤不当	DNA Wash Buffer 按说明书用无水乙醇稀释。
下游应用不好	提取的 DNA 中含高盐	DNA Wash Buffer 如果必须按要求用无水乙醇稀释，必须室温放置。
	提取的 DNA 中含乙醇	洗脱前，必须最高转速空甩柱子 1min。

可能用到的产品

货号	品名	规格
P3105	Plasmid Maix Kit	10T
P2105	Endo-free Plasmid Mini kit	50T
P6105	Yeast Plasmid Kit	50T
C3105	MiniElute Gel Extraction Kit	50T
C4105	MiniElute DNA-Pure Kit	50T
P3415	2XPCR Master Mix	1ml
D1105	Blood DNA Kit	50T
D4105	Plant DNA Kit	50T
D7105	Hpure Fugal DNA Kit	50T
D3105	Baterial DNA Kit	50T
D8105	Soil DNA Kit	50T
R1106	TRNsol(TRIzol)	100ml
R4105	Total RNA Kit II	50T
R5105	Plant RNA Kit	50T
G4210	DH5a 感受态	5*0.2ml
1758-0300	X-gal	1g
1758-1700	IPTG	10g
G3408	EB 替代物	1ml
T2876	TAE (50X)	500ml
T2866	TBE (5X)	500ml
D2313	dNTP	0.5ml
E174	DEPC	110ml
G0668	DEPC-water	100ml
G3420	6X loading buffer	2ml
G1005	TMB 染色剂 (AB 液)	10ml*2
G3422	DAB 染色液	1ml (20 X)
G0577	苏木素伊红染色液	50ml*2

广州捷倍斯生物科技有限公司

地址：广州市国际生物岛螺旋四路一号研发B区403

电话：020-82160415 Email: genebase@vip.163.com WEB: www.gbcbio.cn