

## HiPure Plant DNA Maxi Kit

广谱植物 DNA 大提试剂盒

HiPure Plant DNA Maxi Kits 适合于从 2-5g 新鲜/冻藏植物真菌样品、或 0.3-1g 干燥的植物样品提取高纯度的总 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术和 CTAB/氯仿预处理方式，提取过程中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	D3163-01	D3163-02	D3163-03
纯化次数	2 次	10 次	50 次
HiPure DNA Maxi Columns II	2	10	50
50ml Collection Tubes	2	10	50
Buffer PTL	33 ml	180 ml	2 x 400 ml
PVP-40	0.6 g	3.6 g	16 g
Buffer PBD*	20 ml	80 ml	3 x 160 ml
Buffer GWP	13 ml	60 ml	270 ml
Buffer GW2*	10 ml	25 ml	100 ml
RNase A	5 mg	20 mg	90 mg
Protease Dissolve Buffer	1.8 ml	1.8 ml	15 ml
Buffer AE	5 ml	30 ml	120 ml
说明书	1	1	1

Buffer AE 成分：10mM Tris, 0.5mM EDTA, pH9.0

## 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

- 无水乙醇(96-100%)
- 65℃ 水浴锅
- 2-巯基乙醇
- 按瓶子标签所示, 用无水乙醇稀释 Buffer GW2, 并于室温保存。
- 按瓶子标签所示, 加入 2 倍体积的无水乙醇稀释 Buffer PBD, 于室温保存。
- 溶解 RNase A (15mg/ml): 加入适量的 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

1. 用液氮把植物样品研磨成细小的粉末, 转移 2-5g 新鲜样品或 0.3-1g 干燥样品至 50ml 离心管中。

正确使用组织用量, 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 和其它代谢物质含量差异很大。初次实验时, 我们推荐使用 2.5g 新鲜样品或 500mg 干燥样品, 根据实验结果再调整组织用量。

2. 加入 15ml 预热至 65℃ 的 Buffer PTL 至样品中, 立即最高速度涡旋 10-15 秒使样品充分分散。65℃ 水浴 15~20 分钟, 期间涡旋混匀 3-5 次。

使用前, 按 1 ml Buffer PTL 加入 20  $\mu$ l 2-巯基乙醇。该混合液可在室温放置 2 周。若植物样品富含

多酚类物质，称取一定量的 PVP-40，加到 Buffer PTL1/2-Me 至终浓度为 2%(W/V)，振荡使 PVP-40 充分溶解。PVP-40 可以结合多酚类物质，减少多酚类物质对 DNA 的损伤。Buffer PTL/2-Me/PVP-40 混合液可以在室温放置 4 周。

3. 加入 15ml 氯仿或酚氯仿(25:24)，剧烈涡旋混匀 10 秒，颠倒混匀 15-20 次，室温静置 5 分钟。4,000 × g 离心 20 分钟。
4. 转移上清液至新的离心管中，加入 100µl RNase A，混匀，室温放置 20 分钟。
5. 加入 1.5 倍体积的 Buffer PBD（已加乙醇）至上清液，涡旋混匀 10 秒。  
若出现明显的絮状沉淀，用移液枪吸打尽量打散沉淀。Buffer PBD 在使用前须加入 2 倍的无水乙醇进行稀释。按瓶子标签指示进行稀释。
6. 把 DNA Maxi Column II 装在收集管中，转移不超过 20ml 混合液至柱子中。4,000 × g 离心 5 分钟。
7. 倒弃滤液把柱子装回收集管，把剩余混合液转移至柱子。4,000 × g 离心 5 分钟。重复此步直到把所有混合液都转移至柱子中过滤完毕。
8. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 5ml Buffer GWP 至柱子中，静置 3 分钟。4,000 × g 离心 5 分钟。
9. 倒弃滤液把柱子装回收集管。加入 10ml Buffer GW2 至柱子中。4,000 × g 离心 5 分钟。  
Buffer GW2 在使用之前须用无水乙醇进行稀释。按瓶子标签指示进行稀释。
10. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 5ml 无水乙醇至柱子中。4,000 × g 离心 10 分钟。
11. 倒弃滤液并吸尽收集管中的残液。取出柱子，室温放置 5~10 分钟干燥柱子和收集管。
12. 将柱子装在 50ml 离心管中，加入 700µl 预热到 65°C Buffer AE 至柱子的膜中央。室温静置 3 分钟。4,000 × g 离心 5 分钟。
13. 再加入 700µl 预热到 65°C Buffer AE 至柱子的膜中央。室温静置 3 分钟。4,000 × g 离心 5 分钟。
14. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于 -20°C。

## 常见问题解答

该列表可能有利于解决提取过程所碰到的问题。此外，Magen 的技术人员也可以随时为您提供服务，若您对试剂盒存在问题或建议，或您在分子生物学碰到问题，都请您联系我们。我们将竭尽全力为您排忧解难。

---

现象	原因及解决方法
<b>柱子堵塞</b>	
转移上清液时带有太多沉淀	在下次提取过程中，转移上清液时不要吸到沉淀物。若吸到沉淀物，可把上清液再离心一次。
裂解液非常粘稠	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。减少样品用量或加入 Buffer PTL 的用量。
离心速度太低	提高离心速度
加入氯仿后，混匀不够	在下次制备时，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。
<b>DNA 产量低</b>	
样品匀浆不充分	用液氮将样品研磨细小的粉末状。或延长珠磨仪的研磨时间和速度。
样品裂解不充分	加入 Buffer PTL 后，没有让植物样品充分分散。而涡旋无法让样品充分分散，可用移液枪吸打几次。
不正确的结合条件	计算上清液的体积，加入正确的 Buffer PBD 和无水乙醇。
产生絮状沉淀时，没有打散	当加入 Buffer PBD 和无水乙醇时，有些样品会产生明显的絮状沉淀物，必须用移液枪吸打尽量打散沉淀物。
洗脱效率不够	洗脱时 Buffer AE 预热至 65°C，并加到膜中央，室温放置 3 分钟。Buffer AE 的洗脱体积不够。
Buffer GW2 中乙醇没有加入或加入量不够	按说明书或瓶子标签所示，加入正确的乙醇。
柱子没有空甩	柱子必须空甩 2-3 分钟以去除膜上残留的乙醇。

---