

## 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，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 20 分钟。本产品采用湿法珠磨进行裂解，可快速处理易研磨的烟草、嫩叶、种子等。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	D3188-01	D3188-02	D3188-03
纯化次数	20 次	100 次	250 次
HiPure DNA Columns B10	20	100	250
2ml Collection Tubes	20	100	250
Buffer SOL	15 ml	70 ml	220 ml
Buffer MPB	15 ml	50 ml	120 ml
Buffer PW2*	6 ml	25 ml	50 ml
Elution Buffer	5 ml	15 ml	60 ml
说明书	1	1	1

### 保存条件

本产品室温(15~25°C)可保存 18 个月。低温下，Buffer MPB 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%)
- 70°C水浴锅
- 按瓶子标签所示，用无水乙醇稀释 Buffer PW2，并于室温保存
- 不锈钢钢珠（4mm）
- 珠磨仪

## 实验步骤

1. 在2ml 螺口离心管中，加入 4~6 粒钢珠(4mm)和 500 $\mu$ l Buffer SOL。
2. 加入转移 20~30mg 种子、50~100mg 新鲜/冻存的易研磨的样品（嫩叶、果实等），用珠磨仪进行珠磨 2~3 分钟至组织充分研磨，65°C 温育 10 分钟。  
处理干燥种子时，加入 SOL 后，先浸泡 1-3 小时，让种子充分吸收水份后再进行珠磨。  
处理已经研磨的干燥种子粉末时，转移 50-100mg 粉末以提高产量。  
由于 Buffer SOL 没有足够的裂解能力，处理已研磨好的干燥粉末状样品，或液氮研磨好的样品时，不要省略珠磨步骤。
3. 室温下，13,000  $\times$  g 离心 5 分钟。
4. 转移 300 $\mu$ l 上清液至新的离心管中，加入 450 $\mu$ l Buffer MPB，颠倒混匀 3-5 次。
5. 把 DNA 柱装在收集管中，转移全部混和液至柱子中。12,000  $\times$  g 离心 60 秒。
6. 倒弃滤液把柱子装回收集管，加入 600 $\mu$ l Buffer PW2 至柱子中。12,000  $\times$  g 离心 60 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。加入 300 $\mu$ 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。

8. 将柱子转移至新的 1.5ml 离心管中，加入 30~50 $\mu$ l Elution Buffer 至柱子的膜中央，室温静置 3 分钟。12,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
9. 再加入 30~50 $\mu$ l 预热至 65 $^{\circ}$ C Elution Buffer 至柱子的膜中央，放置 3 分钟。12,000  $\times$  g 离心 1 分钟。
10. 丢弃 DNA 结合柱，把 DNA 保存于-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 30mg 新鲜或 15mg 干燥样品，根据实验结果再调整样品用量。

### 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 PPT 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。
- **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 $\mu$ l 无水乙醇洗涤柱子一次，以去除色素，提高 A260/230 的读数。

