

HiPure SF Plant DNA 96 Kit

96 孔板植物 DNA 试剂盒

HiPure SF 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，适合于从 $\leq 100\text{mg}$ 新鲜/冻藏植物样品， $\leq 20\text{mg}$ 干燥植物/种子样品提取高纯度的总 DNA，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	D3167-01	D3167-02	D3167-03
纯化次数	1 x 96 次	4 x 96 次	20 x 96 次
HiPure gDNA Plate	1	4	20
1.6ml Collection Plate	1	4	20
0.5ml Collection Plate	1	4	20
封口膜	5	20	100
Buffer SPL	60 ml	200 ml	2 x 450 ml
Buffer PS	20 ml	70 ml	300 ml
Buffer PBD*	30 ml	100 ml	3 x 160 ml
Buffer GW2*	50 ml	100 ml	6 x 100 ml
RNase A	20 mg	75 mg	340 mg
Protease Dissolve Buffer	5 ml	15 ml	30 ml
Buffer AE	30 ml	120 ml	500 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

- 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℃。

方案. 植物 DNA 96 提取

该方案适合于从 50mg 新鲜/冻藏植物样品, 或 10mg 干燥的植物样品, 种子提取高纯度的总 DNA。纯化的 DNA 包括基因组 DNA 和叶绿体 DNA。

1. 转移≤50mg 新鲜样品或≤10mg 干燥样品至 1.2ml 96 板(自备)中。采用高通量珠磨仪对样品进行匀浆。推荐使用 Gene Grinder 2010, 或 Bead Mixer 300 等。
2. 立即加入 400μl Buffer SPL 和 10μl RNase A 至样品中, 贴上封口膜, 剧烈振荡使样品充分分散。

使用前按 1ml Buffer SPL 加入 20μl 2-巯基乙醇, 提高裂解液抗氧化的能力, 防止多酚氧化而降低 DNA 产量。

3. 65°C 处理 15 分钟，期间涡旋混匀 1 次。
4. 短暂离心收集孔口液滴，撕去封口膜。加入 140µl Buffer PS 至样品中，贴上封口膜，1200-1500rpm 振荡混匀 90~120 秒，-20°C 放置 10 分钟。
5. 4,000 x g 离心 15 分钟。小心转移上清液至新的 96 孔板中。
6. 加入 1.5 倍体积的 Buffer PBD，贴上封口膜，1200-1500rpm 振荡混匀 90~120 秒。
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。

离心方案

7. 把 HiPure DNA Plate 装在 2ml 收集板中，转移混合液至 96 孔板中。4,000 x g 离心 5 分钟。
8. 倒弃滤液把结合板装回收集板中，把剩余混合液转移至 96 孔板中。4,000 x g 离心 5 分钟。
9. 倒弃滤液把结合板装回收集板中，加入 650µl Buffer GW2 至每个孔中。4,000 x g 离心 5 分钟。
Buffer GW2 在使用之前，必须用无水乙醇进行稀释。按瓶子标签或说明书第 4 页进行稀释。
10. 倒弃滤液把结合板装回收集板中，加入 650µl Buffer GW2 至每个孔中。4,000 x g 离心 5 分钟。
11. 倒弃滤液把 96 孔板装回收集板，4,000 x g 离心 10 分钟去除 96 孔板中残留的乙醇。
12. 将 96 孔板转移至 0.5ml 收集板中。加入 75µl 预热到 65°C Buffer AE 至柱子的膜中央。室温静置 3 分钟。4,000 x g 离心 5 分钟。
13. 再加入 75µl 预热到 65°C Buffer AE 至柱子的膜中央。室温静置 3 分钟。4,000 x g 离心 5 分钟。
14. 取出收集板，贴上封口膜。把 DNA 保存 2-8°C，长期保存需保存于-20°C或-80°C。

抽滤方案

7. 连接好 96 孔真空抽滤盒与真空泵；把废液收集槽放置在真空抽滤盒的底盒中；盖上真空抽滤盒上盖，把 96 孔结合板放置真空抽滤盒的上盖中；
8. 把第 6 步获得的混合液转移至 96 孔结合板中，打开真空泵，用手用力压住 96 孔板，当真空泵压力上升后，轻开手，抽滤 1~3 分钟让裂解液完全过滤。
9. 关闭真空泵。每孔中加入 650 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)。打开真空泵，用手用力压住 96 孔板，当真空泵压力上升后，轻开手。抽滤 1~3 分钟让裂解液完全过滤。
Buffer GW2 在使用之前，必须用无水乙醇进行稀释。按瓶子标签或说明书第 4 页进行稀释。
10. 关闭真空泵。每孔中加入 650 μ l Buffer GW2(已用乙醇稀释)。打开真空泵，用手用力压住 96 孔板，当真空泵压力上升后，轻开手。抽滤 3-5 分钟让裂解液完全过滤。
11. 关闭真空泵。每孔中加入 650 μ l 无水乙醇，打开真空泵，用手用力压住 96 孔板，当真空泵压力上升后，轻开手。抽滤 1~3 分钟让裂解液完全过滤。不要关闭真空泵，以最大的压力抽滤 15 分钟以干燥 96 孔板。
12. 关闭真空泵，打开真空抽滤盒，取出废液收集槽，把收集板放在抽滤盒底部，盖回上盖。
13. 每孔加入 75 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C Buffer AE 至膜中央。室温放置 3 分钟。打开真空泵，用手用力压住 96 孔板，当真空泵压力上升后，轻开手。抽滤 3-5 分钟让裂解液完全过滤。
14. 关闭真空泵。每孔再加入 75 μ l 预热至 65 $^{\circ}$ C Buffer AE 至膜中央。室温放置 3 分钟。打开真空泵，用手用力压住 96 孔板，当真空泵压力上升后，轻开手。抽滤 3-5 分钟让裂解液完全过滤。
15. 关闭真空泵。打开真空抽滤盒。取出收集板，贴上封口膜。把 DNA 保存 2-8 $^{\circ}$ C，长期保存需保存于-20 $^{\circ}$ C或-80 $^{\circ}$ C。