



PowerPlant® DNA Isolation kit

强力植物®Pro DNA 提取试剂盒

货号	提取次数
13400-50	50 次

简介

PowerPlant® Pro DNA Isolation Kit 专门用于从植物细胞、组织、种子等中快速简便地提取总 DNA。采用的珠磨研磨法取代传统累赘的 CTAB 法、苯酚发、氯仿法,从包括草莓叶、棉花叶、棉花种子和松针叶等顽固难提样品高质量 DNA。PowerPlant® Pro DNA Isolation Kit 在提取过程中还使用了专利的抑制因子去除技术(Inhibitor Remover Technology®) 来去除所有 PCR 抑制因子,最终 DNA 可直接用于 PCR、qPCR 和测序等下游实验。

操作预览

取 5-50mg 植物样品与裂解缓冲液加入到 Bead Tube 中进行快速均质化。细胞在物理外力和化学试剂共同作用下崩解,释放出来的 DNA 选择性地吸附在硅胶滤膜上。DNA 经过 IRT 技术去除 PCR 抑制因子后洗脱下来,此时可直接进行下游实验。



均质化所有类型样品首选

PowerLyzer[™] 24

Bench Top Bead-Based Homogenizer

货号: 13155

http://www.anbiosci.com/PowerLyzer_series/13155.htm

配合 PowerLyzer™24 高速研磨机使用 PowerPlant® Pro DNA Isolation Kit:

PowerLyzer™ 24 是一台高效的珠磨研磨设备,首选用于提取各种类型植物组织 DNA。强力的马达可快速均质化样品,节省大量样品处理时间。该机器可设置程序,无需人工干预地进行每次 5min 共 10 个循环。试剂盒提供的 2.38mm 不锈钢研磨珠最适用于提取植物组织样品 DNA。您也可以购买其它类型预灌珠子的研磨套管。详情请联系 anbiosci@126.com。

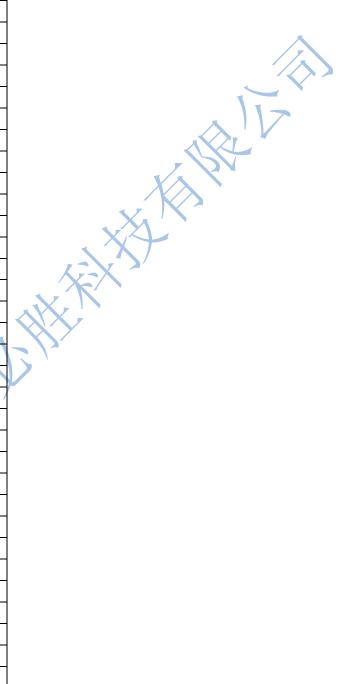
使用 PowerLyzer™ 24 提取植物组织 DNA,可参考操作步骤中的研磨方案建议。



配合其它高速研磨机:

在 FastPrep®或 Precellys®上使用本试剂盒循环参考:

PowerLyzer™24	Fastprep 24m/s	Precellys24
500	-	-
600	-	-
700	-	-
800	-	-
900	-	-
1000	-	-
1100	-	-
1200	-	-
1300	-	-
1400	-	-
1500	-	-
1600	-	-
1700	-	-
1800	-	-
1900	-	-
2000	-	-
2100	-	-
2200	-	-
2300	-	- 7
2400	-	7
2500	4	5000
2600	-	5200
2700	- 🔨	5400
2800	4.5	5600
2900	1.1-	5800
3000	4	6000
3100	5	6200
3200	-	-
3300	<u>-</u>	-
3400	5.5	-
3500	-	-
3600	-	-
3700	-6	-
3800	-	-
3900	-	-
3300		





4100	ı	ı
4200	-	-
4300	-	-
4400	-	-
4500	-	-
5000	-	-

^{*}Fastprep®及 Precelly®无法设置低于 2500rpm 或高于 4000rpm 的转速范围。

多糖多酚分离溶液(PSS)

建议给富含多糖多酚的植物样品提取过程中添加多糖多酚分离溶液。

DNA 平均得率

植物组织的类型、年龄以及多酚含量会影响 DNA 提取得率。下面是几种植物样品使用 PowerPlant® Pro DNA Isolation Kit 提取的平均 DNA 得率:

植物样品	DNA 得率(50mg 样品)	PSS
葡萄叶	2.5-3.5 μ g	+
草莓叶	10-15 µ g	+
番茄茎	10-25 μ g	+
棉花叶	2.5-3.5 μ g	+/-
棉花种子	20-25 μ g	-
草叶	40-50 μ g	+
松针	30-35 μ g	7 t
薄荷叶	2-3 μ	1

^{*+,}添加 PSS 有助提高得率; -,添加 PSS 得率下降; +/-,是否添加 PSS 不影响得率。

相关产品	货号	提取次数
UltraClean -htp 96 Well Plant DNA Isolation Kit	13096-4\13096-12	4×96次\12×96次
LiltraCloan® Plant DNA Isolation Kit	13300-20	20 次
UltraClean® Plant RNA Isolation Kit	13300-50	50 次
PowerLyzer™ UltraClean® Plant RNA Isolation Kit	13355-50	50 次
PowerPlant® RNA Isolation Kit	13500-50	50 次
PowerPlant® RNA Isolation Kit with DNase	13550-50	50 次
PowerLyzer™ 24 Homogenizer	13155	一套
Vortex Adapter, holds 24 (1.5-2.0 ml) tubes	13000-V1-24	一个

设备要求

微型离心机(16000g)



移液器(50 µ I~600 µ I)

Vortex-Genie®2 涡旋仪(MO BIO 货号#13111-V-220)或 PowerLyzer™24 或其它高速研磨机 涡旋仪适配器(MO BIO 货号#13000-V1 或 13000-V1-24)

试剂盒组分

	货号: 13400-50
组分	量
Solution PD1	25ml
Solution PD2	3ml
Solution PD3	14ml
Solution PD4	32ml
Solution PD5	28ml
Solution PD6	2×30ml
Solution PD7	5.5ml
RNase A Solution (25 mg/ml)	165 µ l
Phenolic Separation Solution	2.2ml
PowerPlant® Bead Tubes	50
Spin Filters	50
2 ml Collection Tubes	150

△实验前请先逐一检查试剂!

保存

RNase A 4℃保存。其它组分室温(15-30℃)保存。

操作步骤

1、往 PowerPlant®Bead Tubes 加入 50mg 植物样品及 450 µ l PD1 溶液。

注意: 若使用 PSS 溶液处理富含多酚样品(参照"DNA 平均得率"), **PD1** 溶液改用 410 μ l, **PSS** 溶液用 40 μ l。 这一步发生了什么: 植物样品加到 Tube 管中准备研磨。PSS 溶液把多酚与核酸分离开,后续抑制因子去除(IRT) 步骤多酚降被去除。

- 2、使用前检查 **PD2** 是否沉淀,发生沉淀可 37℃-55℃水浴溶解。加 50 µ I**PD2**。
 - 这一步发生了什么: PD2 溶液含 SDS。低温会发生沉淀。水浴后可趁热使用。
- 3、加入 3 μ l RNase A 溶液, 稍微涡旋混匀。
 - 这一步发生了什么:下面研磨过程中 RNase A 将消化样品中的 RNA。
- 4、使用下列方法中的一种研磨样品:



${ m Anbiosci}$ tech ltd

A.涡旋仪:

把 PowerPlant®Bead Tubes 按在涡旋仪适配器(MO BIO 货号: 13000-V1 或 13000-V1-24)上。连续涡旋振荡 10min.

B.PowerLyzer™24 研磨:

1.、记号笔给 PowerPlant®Bead Tubes 的帽子和外壁都标记样品编号

【注意: 鉴于 PowerLyzer™24 的强大外力,Tube 帽子上的标记可能会被磨掉。建议给 Tube 管帽子和外壁都进行标号。】

2、把 **PowerPlant®Bead Tubes** 放入到 PowerLyzer™24 的 Tube Holder 中。所有 Tube 管包括空位上的都必须配平。根据样品选择合适的速度,1 次循环研磨 2min。

植物样品类型	速度	循环次数	时间/循环
柔软叶片组织	2000RPM	1	2min
富含纤维叶片组织	2200RPM	1	2min
茎	2200RPM	1	2min
根	2500RPM	1	2min
松针	2600RPM	1	2min
种子	2800RPM	1	2min

注意: 最高研磨速度必须限制在上述指导速度的上限内,超出上限有可能导致 PowerPlant®Bead Tubes 破裂或渗漏。

这一步发生了什么:珠磨研磨法无需手工费劲研磨快速均质植物组织。某些情况下植物样品在规定研磨时间和循环后可能不能完全破碎,但此情况不影响获得理想 DNA 得率。

5、Bead Tubes 13000g 离心 2min。

这一步发生了什么: 离心沉淀不要的细胞组织碎片。

6、把上清转移到一个干净的 2ml Collection Tube(试剂盒提供)中。

注意: 根据样品类型, 50mg 的样品大约可获得 450-550 μ I 上清。上清中可能带有少量细胞碎片。

这一步发生了什么: 上清含有 DNA 已经其它细胞成分。尽量避免吸取到底部沉淀。

7、加入 175 × PD3 溶液。4℃孵育 5min。

注意: 难提的样品此步 PD3 可增加到 250 µI。一般样品 175 µI即可。

这一步发生了什么: PD3 是创新的抑制因子去除技术(IRT)的重要组成之一,这步充分去除样品中的 PCR 抑制因子。

8、13000g 离心 2min。

这一步发生了什么: 离心沉淀蛋白与腐植酸成分。

9、避开沉淀,转移 600 μ I 上清到一个新的 2ml Collection Tube(试剂盒提供)中。



10、加入 600 μ I PD4 溶液和 600 μ I PD6 溶液。涡旋 5s 混匀。

这一步发生了什么: PD4 为绑定盐溶液, 其浓度及组分能使 DNA 选择性地吸附到硅胶离心柱上。PD6 为含酒精的缓冲液, 可使最大化绑定核酸到离心柱。

11、加载 600 μ l 上溶液到一个 **Spin Filter** 上,10000g 离心 30s。弃去滤液,**Spin Filter** 重新放回到 Tube 管中,再加载 600 μ l 上溶液,然后离心,弃去滤液。重复步骤直到过滤完所有溶液。

这一步发生了什么: PD4 和 PD6 溶液的共同作用下, DNA 选择性地吸附到 Spin Filter 上。

- 12、加入 500 μ I **PD5** 溶液到 Spin Filter 离心柱中。10000g 离心 30s。弃去滤液。Spin Filter 放回到 Tube 管中。 这一步发生了什么: PD5 为含酒精冲洗缓冲液,可去除滤膜上残留的盐分及其它杂质。
- 13、加入 500 µ I **PD6** 溶液到 Spin Filter 离心柱中。10000g 离心 30s。弃去滤液,把 Spin Filter 放回到 Tube 管中。 这一步发生了什么: PD6 溶液溶液为含酒精缓冲液,可进一步去离心柱滤膜上残留的盐分及其它杂质。
- 14、16000g 再离心 2min, 去除残余的 PD6 溶液。

这一步发生了什么: 重要步骤! 进行下一步强必须清除残留冲洗缓冲液。

- 15、把 Spin Filter 转移到一个新的 2ml Collection Tube(试剂盒提供)中。避免沾到任何 PD6 溶液。
- 16、加入 50-100 μ I **PD7**(10mM Tris, pH8.0)到离心柱滤膜中间,室温孵育 2min。
- 17、10000g 离心 30s。

注意: 为了最大化地洗脱,可把滤液冲洗加到白色滤膜上,10000g 再离心 30s。

这一步发生了什么: PD7 为 10mM Tris, pH8.0。低盐缓冲液重溶洗脱滤膜上吸附的 DNA,中心 pH 有主意保存过程中保护 DNA。

18、弃去 Spin Filter。洗脱液中的 DNA 可直接用于下游实验,无需进一步处理。

DNA 建议-20℃保存。PD7 溶液不含 EDTA。

感谢选用 PowerPlant® Pro DNA Isolation Kit!



疑点难点

珠磨研磨前样品加热

根据物种不同或某些植物部位,在添加 **PD1/PD2** 溶液前需要稍微加热,而可选溶液 PSS 使用前有时也需要 65℃水浴 10min 溶解沉淀。实验发现大部分叶片、草叶、松针提取 DNA 前无需加热。具体样品请通过试验评估做出选择。

研磨力度

有些植物样品比建议或少或多的研磨速度和时间,请根据具体样品做出适当调整。

DNA 保存

洗脱在 PD7(1mM Tris,pH8.0)溶液中的 DNA -20℃保存。也可以用 TE(货号: 17325-1000)或 TE-4(10mM Tris,0.4mM EDTA,货号 17320-1000)洗脱。

更多实用技巧请参阅 http://www.anbiosci.com/MBweibo/blog.htm