

磁珠法植物组织基因组DNA提取试剂盒（预装版） MagBeads Plant Genomic DNA Extraction Kit (Pre-loading Version)

【目录号】PTDE-P-5002、PTDE-P-5004、PTDE-P-5024

【运输条件】2~25℃；

【保存条件】试剂板、 β -巯基乙醇 4℃保存；蛋白酶K -20℃保存；其它组分室温保存；

【试剂盒组成】

| Kit Component 试剂盒组成 | | PTDE-P-5002 (16T*2) | PTDE-P-5004 (16T*4) | PTDE-P-5024 (16T*24) |
|------------------------|------------------------------|------------------------|------------------------|-------------------------|
| 试剂板 | Preloading Plate 预封装试剂板 | 2 块 | 4 块 | 24 块 |
| 耗 材 | Magnetic Bar Set 磁棒套 | 2 个/包*2 包 | 2 个/包*4 包 | 2 个/包*24 包 |
| 试 剂 | PTDE-Buffer 裂解液 | 15mL | 30mL | 160mL |
| | Proteinase K 蛋白酶 K | 1mL | 1.5mL | 8mL |
| | β -ME β -巯基乙醇 | 30 μ L | 60 μ L | 320 μ L |
| | Elute Buffer 洗脱液 | 3mL | 5mL | 10mL |

【注意事项】

1. 试剂板严禁反复冻融，以免磁珠受到损害；
2. 试剂板中6/12号孔位洗脱液预加入量为100 μ L，如需要可用配套洗脱液自行增加用量；
3. 使用前请检查裂解液是否出现结晶，如有结晶请置于65℃温浴至重新溶解完全；
4. 蛋白酶K长期不使用，请置于-20℃保存，融化后4℃保存，并尽快使用；
5. β -巯基乙醇易被氧化，切勿过早加入裂解液中，加入后请置于4℃保存并尽早使用完毕；
6. 使用前请仔细阅读并按照本操作指南建议操作。

【产品简介】

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和缓冲液体系，可从各种类型植物组织样本中高质量的分离纯化基因组DNA。特殊技术包埋的磁珠在特定条件下对核酸具有极强的亲和力，而当条件改变时，磁珠会释放所吸附的核酸，从而达到快速分离纯化核酸的目的。本试剂盒所使用磁珠为不同种类混合磁珠，其中含有高效除杂磁珠，提取所得的基因组DNA产物片段大、纯度高，可应用于各种下游分子生物学实验，如：酶切、PCR、荧光定量PCR、文库构建、Southern杂交、芯片检测和高通量测序等。

本试剂盒提前将试剂组分预分装入96孔板，节省实验操作者加液时间，提高工作效率。试剂盒需配合磁棒法核酸提取仪使用。

【试剂盒说明】

| 样本类型 | 样本量 | DNA提取范围 |
|--------|----------|--------------|
| 各种植物组织 | 20~100mg | 3~25 μ g |

【自备仪器和试剂】

1. 英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪（或其它品牌磁棒法核酸提取仪）；
2. 金属浴或水浴锅；
3. 甩板离心机；
4. EP管（2.0mL）；
5. 离心机（EP管用）。

【操作步骤】

本指南以英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪为例，同步可完成32份样本提取工作。

1. 试剂板准备

- 1) 从试剂盒中取出独立包装预封装试剂板，颠倒数次使磁珠重悬均匀；
- 2) 用甩板机离心（500rpm, 1min）使试剂及磁珠集中到孔板底部；
- 3) 小心撕去铝箔封口膜，避免孔板振动，防止液体溅出。

2. 样本前处理&裂解

1) 取适量(≤ 100 mg)植物组织样本，液氮研磨至粉末状，尽量完全转移至EP管中。加入400 μ L裂解液、0.8 μ L β -巯基乙醇和20 μ L蛋白酶K，涡旋振荡1~3min至混合均匀，呈云雾状。将EP管置于金属浴中65 $^{\circ}$ C温浴15min，每隔5~10min上下颠倒混匀一次。

注：1) 如样本量大于100mg，但不超过400mg，需增加裂解液使用量，可按照每增加100mg组织样本增加150 μ L裂解液使用量，并延长裂解时间，其余试剂用量不变；2) 若样本个数较多，可预

先将蛋白酶K、 β -巯基乙醇和裂解液提前混合备用；3) 如需去除RNA，需在加入蛋白酶K之前额外加入5 μ L RNase A溶液。

2) 将裂解完毕样本室温（勿低于15℃）、13000rpm离心5min，待用。

注：如植物样本复杂或对DNA产物纯度要求较高，可增加操作如下：将裂解完毕样本放至室温，加入等体积酚/氯仿/异戊醇（25:24:1）混合液，充分震荡混匀至体系呈均一乳浊液，静置10min后12,000rpm离心5~10min，转移上清至96孔板的第2/8列孔位中，注意不要吸取到中间蛋白质层。

3. 上机提取

- 1) 向试剂板1号孔位（或7号孔位）中分别加入350 μ L异丙醇；
- 2) 向试剂板2号孔位（或8号孔位）中分别转入步骤2 2)中所有上清液；
- 3) 将试剂板置于ETP-300型核酸提取仪中，并插入磁棒套；
- 4) 打开仪器操作软件，调用“植物基因组DNA提取程序”，并运行。

“植物基因组DNA提取程序”各参数设置如下，如机器和说明书不一致，请以说明书为准：

| 步骤编号 | 孔位 | 运行类型 | 振荡时间 (s) | 分离时间 (s) | 挥发时间 (s) | 振荡幅度 | 振荡强度 | 一组温度 (°C) | 二组温度 (°C) | 三组温度 (°C) | 四组温度 (°C) |
|------|----|--------|----------|----------|----------|------|------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| 1 | 1 | 转移磁珠 | 1 | 5 | 0 | 5 | 弱 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | 2 | DNA 结合 | 180 | 5 | 0 | 4 | 中 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | 1 | 清洗 1 | 180 | 5 | 0 | 5 | 强 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 4 | 2 | DNA 结合 | 300 | 10 | 0 | 4 | 中 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 5 | 1 | 清洗 1 | 180 | 5 | 0 | 5 | 强 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 6 | 3 | 80%乙醇 | 180 | 5 | 0 | 5 | 强 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | 4 | 80%乙醇 | 120 | 5 | 0 | 5 | 强 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 8 | 5 | 除醇 | 0 | 5 | 0 | 3 | 强 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 9 | 6 | 洗脱 | 360 | 30 | 0 | 2 | 中 | 60 | 60 | 60 | 60 |
| 10 | 3 | 弃磁珠 | 15 | 0 | 0 | 5 | 强 | 0 | 0 | 0 | 0 |

4. 核酸转移

程序运行完毕，取下试剂板，将洗脱液（试剂板的6/12号孔位内液体）转移至干净的EP管中，提取过程完毕。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南所有权利。版本：V201811.291

英芮诚生化科技（上海）有限公司

地址：上海市杨浦区国权北路 1688 号湾谷科技园 A8 座 303 室

电话：021-55809378

网址：www.bio-enriching.com

电子邮件：marketing@bio-enriching.com