

磁珠法植物组织基因组DNA提取试剂盒

MagBeads Plant Genomic DNA Extraction Kit

【目录号】PTDE-5005、PTDE-5030;

【运输条件】2~25℃;

【保存条件】磁珠分散液、 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-5005 (50T)	PTDE-5030 (300T)
① PTDE-Buffer 裂解液	21mL	125mL
② PTDE-Binding Buffer 结合液	12mL (使用前加入 18mL 异丙醇)	70mL (使用前加入 105mL 异丙醇)
③ PTDE Magnetic Beads 磁珠悬浮液	4mL	24mL
④ Wash Buffer 清洗缓冲液	30mL	180mL
⑤ Proteinase K 蛋白酶 K	1mL	6mL
⑥ β -ME β -巯基乙醇	42 μ L	250 μ L
⑦ Deanol Buffer 除醇液	20mL	120mL
⑧ Elute Buffer 洗脱液	5mL	30mL

【注意事项】

1. 使用前请检查裂解液和结合液中是否出现结晶, 如有结晶请置于65℃温浴至重新溶解;
2. 初次使用全新试剂盒前, 请按照结合液标签标注量加入异丙醇, 稀释备用;
3. 磁珠悬浮液不可反复冻融或离心, 使用前需充分摇匀;
4. 蛋白酶K于-20℃长期保存, 避免反复冻融; 融化后4℃保存, 并尽快使用;
5. 请仔细阅读本说明书, 并按照操作指南建议操作。

【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优良的亲和力，而当条件改变时，磁珠会可逆释放所吸附的核酸，从而达到快速分离纯化核酸的目的。本试剂盒所采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。本产品可配合自动化核酸提取仪或工作站使用，实现高通量操作，降低科研工作者工作量，减少人为误差。

【试剂盒说明】

样本	最适提取量	核酸得量范围
各种类型植物组织	20~100mg	3~25 μ g

【自备仪器及耗材】

研钵&研磨棒(或者研磨机、匀浆机)、水浴锅、涡旋混合仪、高速离心机、EP管(2.0mL)、EP管配套用磁力架、核酸提取仪(仪器自动版操作步骤需准备)。

【自备试剂】

液氮、乙醇(80%, v/v)、异丙醇、RNase A溶液(100mg/mL, 分散液10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH值8.0)。

【仪器自动版操作步骤】

该方法配合磁棒法核酸提取仪使用，以英芮诚ETP-300型全自动核酸提取仪为例，可同步完成32份植物样本提取工作。

1. 96孔板准备

参照下表用量，向96孔板相应孔位中分别加入对应试剂：

孔位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液 80 μ L 清洗缓冲液 600 μ L	结合液 550 μ L (已加入异丙醇)	80%乙醇 600 μ L	80%乙醇 600 μ L	除醇液 400 μ L	洗脱液 100 μ L

注：1) 每次吸取磁珠悬浮液前尽量摇晃均匀；2) 为提高效率建议使用排枪；3) 试剂加板完毕请尽快使用，防止醇挥发导致结果波动。

2. 样本前处理&裂解

取适量(\leq 100mg)植物组织样本，液氮研磨至粉末状，尽量全部转移至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至均匀。65 $^{\circ}$ C温浴15min，每隔5min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。

3. 样本上样

将裂解完毕样本室温（勿低于 15 $^{\circ}$ C）、12,000rpm 离心 5min，吸取 300~400 μ L 上清液转移到在 96 孔板的第 2/8 列孔位。

注：如植物样本复杂或对 DNA 产物纯度要求较高，可增加如下操作步骤：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，然后 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。

4. 上机提取

将 96 孔板置于 ETP-300 型核酸提取仪中、插入磁棒套、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 ($^{\circ}$ C)	二组温度 ($^{\circ}$ C)	三组温度 ($^{\circ}$ C)	四组温度 ($^{\circ}$ 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

5. 核酸转移

程序运行完毕，取下 96 孔板，将洗脱液转移至干净的 EP 管中，提取过程完毕。

【手动版操作步骤】

1. 样本前处理&裂解

参照【仪器自动版操作步骤】中步骤 2 进行操作。

2. 核酸结合

1) 将裂解完毕 EP 管室温（勿低于 15 $^{\circ}$ C）、13,000rpm 离心 5min，吸取 300~400 μ L 上清液转移至另一只干净 EP 管中。

注：如植物样本复杂或对 DNA 产物纯度要求较高，可增加如下操作步骤：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，然后 12,000rpm 离心 5~10min，转移上清至另一干净 EP 管中，注意不要吸取到中间蛋白层。

2) 向 EP 管中加入 80 μ L 磁珠悬浮液以及 550 μ L 结合液（已加异丙醇），颠倒混合均匀。将

EP管高速涡旋振荡6min，使磁珠与核酸充分结合，振荡完毕静置2min。

3. 磁性分离

将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，如果EP管内盖有磁珠，可保持EP管在磁力架上，整体上下颠倒2~3次至磁珠被完全吸附。保持EP管固定于磁力架上，用移液枪吸弃上清液，期间避免接触磁珠。

4. 清洗

1) 向EP管中加入600μL清洗缓冲液，将EP管从磁力架上取下，用移液枪吹散磁珠，涡旋震荡2min，磁性分离（参照步骤3操作），弃上清液。

2) 使用600μL 80%乙醇，参照步骤1)操作2次，弃上清液。

5. 除醇

可选用如下任一方法进行除醇操作：

方法一：将弃尽上清液后的EP管置于磁力架上，连同磁力架一起放入45℃真空干燥箱中，干燥约10min至无明显乙醇味。

注：若无真空干燥箱，亦可在保持通风橱通风或电风扇的状态下静置约10min，具体时间根据气温变化可能需要适当调整，以磁珠干燥完全为原则。

方法二：将除尽上清液后的EP管保持在磁力架上，加入800μL除醇液，迅速手动摇动EP管冲洗磁珠表面，并快速弃去除醇液。

6. 洗脱

向EP管中加入100μL洗脱液，用移液器吹散磁珠，65℃温浴5min，然后涡旋洗脱2min，确保磁珠与核酸完全洗脱解离。

7. 核酸转移

洗脱完毕后，将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，用移液枪将洗脱液转移至另一干净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