

M5 Hiper Magbead Plant DNA Kit

磁珠法植物基因组 DNA 提取试剂盒

使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Hiper Magbead Plant DNA Kit	96T	MF484-01

【储存条件】 室温保存，有效期 12 个月。可在 4-37°C 运输，运输时间建议不超过 7 天。**切勿冷冻！**

【产品简介】

该试剂盒提供了一种简单、高效的植物 DNA 提取方案。植物细胞经物理方法破碎后，裂解产物中的 DNA 在高盐存在时结合于硅基包被的磁珠表面。漂洗后，DNA 被洗脱于 Buffer EB 或去离子水中。提取得率与样品类型以及细胞破碎效果有很大关系，提取得到的 DNA 可用于二代测序、PCR 检验等下游实验。

【产品组份】

Buffer LP1	50 ml
Buffer LP2	15 ml
Buffer ML	24 ml
Buffer GW1 (concentrate)	40 ml
Buffer GW2 (Concentrate)	50 ml
Buffer EB	30 ml
RNase A (10 mg/ml)	0.6 ml
Magbeads PN	1 ml

【适合样本】 植物样本

【注意事项】

- 1、第一次实验前按照试剂瓶标签上的说明向 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入指定用量的无水乙醇；
- 2、Magbeads PN **严禁冰冻、高速离心**。冰冻、高速离心可能会对 Magbeads 造成不可逆的损害。

【自备仪器和试剂】

1. 手动单管提取：

- 1) 恒温混匀仪
- 2) 2/15 ml 磁力架

2. 32 通道全自动核酸提取仪的匹配：

- 1) 32 通道全自动核酸提取仪
- 2) 96 孔深孔板，8 联深孔磁套

3. 96 通道全自动核酸提取仪的匹配：

- 1) 96 通道全自动核酸提取仪
- 2) 96 孔深孔板，96 深孔板磁套

4. 无水乙醇、异丙醇

【操作步骤】

实验前准备：使用前请将所有试剂颠倒混匀 3-5 次。磁珠悬浮液使用前需在涡旋混匀仪上充分重悬，或充分颠倒混匀，在一次性加样 32-48 次后，建议再次混匀后再继续加样。

1.手动单管操作

1、植物材料的破碎：

方案 1：

- 1) 在研钵中加入液氮将植物材研磨至粉状，使细胞充分破碎。之后转移 50-100mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料的粉末至 2.0 ml 离心管中；
- 2) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1 和 6 μ l RNase A (10 mg/ml)，涡旋震荡 1 min 后室温放置 10 min；

方案 2：

- 1) 向 2.0 ml 离心管中加入 50 -100 mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料；
- 2) 用液氮速冻后用玻璃将植物材料充分研磨至粉状；
- 3) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1 和 6 μ l RNase A (10 mg/ml)，涡旋震荡 1 min 后室温放置 10 min；

方案 3：

- 1) 向 2.0 ml 离心管中加入 50 -100 mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料；
- 2) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1、6 μ l RNase A (10 mg/ml)和 1 颗钢珠，之后立即将离心管固定于组织破碎仪中震荡破碎；
- 3) 将离心管从组织破碎仪中取出后，室温放置 10 min；

2、短暂离心后向离心管中加入 130 μ l Buffer LP2，之后涡旋震荡 1 min；

3、12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 5 min 后，转移 300 μ l 裂解产物至 1.5 ml 离心管中；

4、向 1.5 ml 离心管中加入 200 μ l Buffer ML，涡旋震荡混匀后加入 300 μ l 异丙醇和 10 μ l Magbeads PN；

5、将离心管固定于 25 $^{\circ}$ C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 5 min 或连续颠倒混匀 5 min；

6、将离心管固定于磁力架上静置 1 min，之后充分弃去溶液；

7、向离心管中加入 750 μ l Buffer GW1，之后将离心管固定于 25 $^{\circ}$ C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 2 min 或涡旋震荡 1 min

8、将离心管固定于磁力架上静置 1 min，之后充分弃去溶液；

9、向离心管中加入 750 μ l Buffer GW2，之后将离心管固定于 25 $^{\circ}$ C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡混匀 2 min 或涡旋震荡 1 min；

10、将离心管固定于磁力架上静置 1 min，之后充分弃去溶液；

11、重复步骤 9-10；

12、将离心管短暂离心后用移液器再次去除管底溶液，之后室温放置 5-10 min 使乙醇充分挥发；

13、向离心管中加入 100 μ l Buffer EB，涡旋震荡时磁珠充分悬浮与洗脱液中后将其放于 65 $^{\circ}$ C、1600 rpm 的恒温混匀仪上震荡裂解 10 分钟，或在 65 $^{\circ}$ C 水浴锅中孵育 10 min，期间涡旋震荡 4 次。

14、将离心管固定于磁力架上静置 2 min，待磁珠充分吸附于离心管侧壁后将洗脱液转移至新的离心管中-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

2. 与 32 通道全自动核酸提取仪的匹配

产品与 32 通道全自动核酸提取仪匹配后可一次性从 1-32 份样本中提取 DNA/RNA。

1、植物材料的破碎：

方案 1:

- 1) 在研钵中加入液氮将植物材研磨至粉状，使细胞充分破碎。之后转移 50-100 mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料的粉末至 2.0 ml 离心管中；
- 2) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1 和 6 μ l RNase A (10 mg/ml)，涡旋震荡 1 min 后室温放置 10 min；

方案 2:

- 1) 向 2.0 ml 离心管中加入 50 -100 mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料；
- 2) 用液氮速冻后用玻璃将植物材料充分研磨至粉状；
- 3) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1 和 6 μ l RNase A (10 mg/ml)，涡旋震荡 1 min 后室温放置 10 min；

方案 3:

- 1) 向 2.0 ml 离心管中加入 50- 100 mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料；
- 2) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1、6 μ l RNase A (10 mg/ml)和 1 颗钢珠，之后立即将离心管固定于组织破碎仪中震荡破碎；
- 3) 将离心管从组织破碎仪中取出后，室温放置 10 min；

2、短暂离心后向离心管中加入 130 μ l Buffer LP2，之后涡旋震荡 1 min；

3、12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 5 min 后，转移 300 μ l 裂解产物至 96 DW 深孔板中；

4、按下表向 96 DW 深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7Colume	Lysate: 300 μ l Buffer ML: 200 μ l Isopropanol: 300 μ l Magbeads PN: 10 μ l
2&8Colume	Buffer GW1: 750 μ l
3&9Colume	Buffer GW2: 750 μ l
4&10Colume	Buffer GW2: 750 μ l
6&12Colume	Buffer EB: 100 μ l

5、将 96 DW 深孔板以及磁棒套放于 CWE2100 仪器中，运行 Cowin Plant 程序。

6、约 30 min 后程序运行结束，取出深孔板与磁套。将 6&12 列中的裂解产物转移至 1.5 ml 离心管中-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

3. 与 96 通道全自动核酸提取仪的匹配

产品与 96 通道全自动核酸提取仪匹配后可一次性从 1-96 份样本中提取 DNA/RNA。

1、植物材料的破碎：

方案 1：

1) 在研钵中加入液氮将植物材研磨至粉状，使细胞充分破碎。之后转移 50-100 mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料的粉末至 2.0 ml 离心管中；

2) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1 和 6 μ l RNase A (10 mg/ml)，涡旋震荡 1 min 后室温放置 10 min；

方案 2：

1) 向 2.0 ml 离心管中加入 50- 100 mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料；

2) 用液氮速冻后用玻璃将植物材料充分研磨至粉状；

3) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1 和 6 μ l RNase A (10 mg/ml)，涡旋震荡 1 min 后室温放置 10 min；

方案 3：

1) 向 2.0 ml 离心管中加入 50- 100 mg 新鲜植物材料或 20 mg 干燥植物材料；

2) 向离心管中加入 400 μ l Buffer LP1、6 μ l RNase A (10 mg/ml)和 1 颗钢珠，之后立即将离心管固定于组织破碎仪中震荡破碎；

3)将离心管从组织破碎仪中取出后，室温放置 10 min；

2、短暂离心后向离心管中加入 130 μ l Buffer LP2，之后涡旋震荡 1 min；

3、12,000 rpm (~13,400 \times g)离心 5 min 后，转移 300 μ l 裂解产物至 96 DW 深孔板中；

4、按下表向 96 DW 深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
Plate 1	Lysate: 300 μ l Buffer ML: 200 μ l Isopropanol: 300 μ l Magbeads PN: 10 μ l
Plate 2	Buffer GW1: 750 μ l
Plate 3	Buffer GW2: 750 μ l
Plate 4	Buffer GW2: 750 μ l
Plate 6	Buffer EB: 100 μ l

5、将 96 DW 深孔板以及磁棒套放于 CWE9600 仪器中，运行程序。

6、约 30 min 后程序运行结束，取出深孔板与磁套。将 Plate 6 中的裂解产物转移至 1.5ml 离心管中-20 $^{\circ}$ C 保存备用。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。