

MagPure Plant DNA Kit B

磁珠法植物 DNA 提取试剂盒 B

本产品为植物或真菌样品的 DNA 快速制备提供了一个自动化的解决方案。试剂盒基于高结合力的纳米磁性粒子的纯化方式。样品在裂解液作用下裂解，DNA 释放到裂解液中。加入结合液和磁性粒子吸附 DNA，而蛋白质则不被吸附而去除。吸附了 DNA 的粒子经洗涤液洗涤去除蛋白质和其它杂质，再经含乙醇洗涤液洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(Buffer TE)洗脱。洗脱的 DNA 可直接用于 PCR、限制性内切酶酶切等下游实验。

产品组份

- 瓶装试剂

产品编号	D6351-00B	D6351-01B	D6351-02B	D6351-03B
纯化次数	24 次	48 次	96 次	480 次
MagPure Particles	1.0 ml	1.6 ml	3.5 ml	16 ml
Buffer PAL	20 ml	40 ml	70 ml	350 ml
Buffer BDP	20 ml	40 ml	70 ml	350 ml
Buffer BST1	40 ml	70 ml	140 ml	2 x 350 ml
Buffer BW1 *	13 ml	13 ml	26 ml	132 ml
Elution Buffer	10 ml	10 ml	30 ml	100 ml

保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Buffer BDP 和 MagPure Particles 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

产品组份

- 预分装试剂, 版本, 尖底板

货号	试剂组份与装量	D6351B-TL-06	D6351B-S-48
Buffer PAL		70 ml	40 ml
Buffer BDP		70 ml	40 ml
DA-Tip		12 个	24 个
尖底板 试剂条	1/7孔: 500 μ l Buffer BST1	6 块	48 条
	2/8孔: 500 μ l Buffer BST1		
	3/9孔: 500 μ l 无水乙醇/30 μ l 磁珠MP		
	4/10孔: 500 μ l Buffer BW1		
	5/11孔: 500 μ l Buffer GW2		
	6/12孔: 100 μ l 洗脱液EB		

保存条件

本产品室温运输, 长期保存时, 把 Buffer BDP 保存于 2-8 $^{\circ}$ C, 其余产品保存于室温, 有效期 18 个月。

准备工作

- 无水乙醇和 80%乙醇

第一部分. 样品裂解

1. 用液氮把植物/真菌样品研磨成粉末, 转移 30~150mg 新鲜/冻藏样品或 15~40mg 干燥样品至 2ml 离心管中。

正确使用样品量才能获得理想结果。过量样品会引起产量和纯度下降。由于植物样品 DNA 和代谢物含量差异很大。初次实验, 推荐使用 30mg 新鲜或 20mg 干燥样品, 根据实验结果再调整样品用量。处理富含液质丰富的样品时, 建议样品用量不要超过 30mg(新鲜)。

2. 立即加入 600 μ l Buffer PAL 至样品中, 剧烈涡旋使样品充分分散, 65 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟, 期间混匀 2~3 次。

处理复杂样品时, 加入 2-巯基乙醇(自配)至 Buffer PAL 中, 终浓度为 5%(V/V)。处理常规的简

易经济作物，如水稻、玉米、番茄等可无需加入 2-巯基乙醇。

3. **加入 600 μ l Buffer BDP 至样品中，涡旋混匀 15 秒。**

处理富含多酚或淀粉的植物/真菌组织，用酚:氯仿/1:1 代替氯仿抽提。

4. 13,000 \times g 离心 5 分钟。

第二部分: 单管操作

1. 转移 500 μ l 上清液(第 4 步)至新的 1.5ml 离心管中。**加入 30 μ l MagPure Particles 和 750 μ l Buffer BST1，颠倒混匀 10-15 次。**室温放置 5 分钟，其间涡旋混匀几次。转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

● 若裂解液 DNA 总量超过 10 μ g 时，用 500 μ l 乙醇代替 Buffer BST1 可以提高产量。

2. **加入 500 μ l Buffer BST1，涡旋 15 秒。**转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

3. **加入 500 μ l Buffer BW1，涡旋 15 秒。**转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

4. **加入 750 μ l 80%乙醇，涡旋 10 秒。**转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

5. **加入 750 μ l 80%乙醇，涡旋 10 秒。**转移至磁力架上吸附 1 分钟，倒弃或吸弃溶液。

6. 短暂离心收集管壁上液滴，转移至磁力架上，吸尽残液。空气干燥 10 分钟。

7. **加入 100 μ l Elution Buffer，**涡旋打散磁珠。55 $^{\circ}$ C 振荡温育 10 分钟。若无振荡温育，其间涡旋混匀 2~3 次加速 DNA 的溶解。

8. 转移至磁力架上吸附 5 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

第三部分.32/48 通道核酸提取仪操作

1. 瓶装试剂: 按预分装试剂表格所示，按各种试剂分装至 96 孔板对应的孔中。

预分装试剂: 先振荡 96 孔板让磁珠充分悬浮，正放 1 分钟后，去除封口袋和封口膜。

2. **双孔高盐介导结合:** 在第 1/7, 2/8 排对应孔中，各加入 300 μ l 上清液(见第一部分)，运行高盐介导程序。**【适合多糖类样品，最高结合力不超过 15 μ g】**

醇类介导结合: 若裂解液 DNA 总量超过 10 μ g 时，转移 500 μ l 上清液至第 3/8 排孔，并按乙醇介导程序进行。**【适合简易样品，无结合力限制】**

3. 把磁力外套插到仪器中。把 96 孔板放到仪器中(A1 孔按左内角放置)。

4. 约 30 分钟，结束。

5. 取出 96 孔板和磁力外套。把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中，把产物保存于-20~-8℃。

高盐介导程序（高纯度，高效去除多糖和色素，产量不超过 10ug)

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	吸磁	3	500	20s	7	0	0	40s	0	0	自动	/	/
2	结合1	1	800	200s	7	0	0	60s	0	0	自动	/	/
3	结合2	2	800	200s	7	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗1	4	500	90s	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	清洗2	5	500	90s	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
6	清洗3	3	500	90s	9	0	0	60s	0	0	自动	/	/
7	干燥	3	500	0	0	5min		0	0	0	自动	/	/
8	洗脱	6	100	480s	9	0	0	60s	0	40	自动	6	55
9	弃磁	5	600	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/

乙醇介导结合程序（高产量)

序号	步骤名称	孔位	容积	混合时间		等待		磁吸时间			吸磁	加热	
				时间	速度	时间	位置	升降	液面	底部		板位	温度
1	结合	3	900	300s	6	0	0	60s	0	0	自动	/	/
2	清洗1	2	500	120s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
3	清洗2	4	500	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
4	清洗2	5	500	90s	8	0	0	60s	0	0	自动	/	/
5	干燥	5	500	0	0	5min		0	0	0	自动	/	/
6	洗脱	6	100	480s	9	0	0	60s	0	40	自动	6	55
7	弃磁	5	500	30s	9	0	0	0	0	0	自动	/	/