

版本号: DP151130

Magnetic Plant Genomic DNA Kit

磁珠法植物基因组DNA提取试剂盒

目录号: DP342

产品内容

产品组成	DP342-01 (50 preps)	DP342-02 (200 preps)
缓冲液GPM (Buffer GPM)	25 ml	100 ml
缓冲液GPM plus (Buffer GPM plus)	25 ml	100 ml
缓冲液GHB (Buffer GHB)	20 ml	80 ml
去蛋白液RD (Buffer RD)	12 ml	48 ml
漂洗液PWB (Buffer PWB)	15 ml	50 ml
RNase A (10 mg/ml)	300 μ l	1.25 ml
磁珠悬浮液G (MagAttract Suspension G)	1 ml	3 \times 1 ml
洗脱缓冲液TB (Buffer TB)	15 ml	60 ml

储存条件

该试剂盒置于室温 (15-25 $^{\circ}$ C) 干燥条件下, 可保存12个月, 更长时间的保存可置于2-8 $^{\circ}$ C。2-8 $^{\circ}$ C保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应将试剂盒内的溶液在室温放置一段时间, 必要时可在37 $^{\circ}$ C水浴中孵育10 min, 以溶解沉淀。

产品简介

本试剂盒采用具有独特分离作用的磁珠和独特的缓冲液系统，可以从多种植物组织中分离纯化高质量基因组DNA。独特包埋的磁珠，在一定条件下对核酸具有很强的亲和力，而当条件改变时，磁珠释放吸附的核酸，能够达到快速分离纯化核酸的目的。整个过程安全、便捷，提取的基因组DNA片段大，纯度高，质量稳定可靠，尤其适合高通量工作站的自动化提取。

使用本试剂盒纯化的DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交、芯片检测、高通量测序等实验。

产品特点

- **简便快捷：** 1 h内即可获得超纯的基因组DNA
- **高通量：** 可整合移液法和磁棒法自动化仪器进行高通量提取实验
- **广泛：** 适用于多种植物组织
- **安全无毒：** 无需酚/氯仿等有毒有机试剂
- **纯度高：** 获得的DNA纯度高，可直接用于芯片检测、高通量测序等实验

提取得率

植物材料	提取量	平均DNA产量	OD ₂₆₀ /OD ₂₈₀
小麦	100 mg	18-25 µg	1.7-1.9
松树	100 mg	25-30 µg	1.7-1.9
马铃薯	100 mg	4-6 µg	1.7-1.9
番茄	100 mg	10-15 µg	1.7-1.9
烟草	100 mg	10-15 µg	1.7-1.9
水稻	100 mg	10-25 µg	1.7-1.9
大豆	100 mg	10-25 µg	1.7-1.9
玉米	100 mg	20-30 µg	1.7-1.9
棉花	100 mg	10-25 µg	1.7-1.9

注：不同来源植物材料中基因组会有差异，以上所有材料均为幼嫩叶片。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 本产品适用于手工提取或自动化仪器整合。
2. 自备试剂：异丙醇，无水乙醇。
3. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量也下降。
4. 若缓冲液GHB中有沉淀，可在37 °C水浴中重新溶解，摇匀后使用。

操作步骤

使用前请先在去蛋白液RD和漂洗液PWB中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶子上的标签。

一、手工操作步骤：

1. 取植物新鲜组织约100 mg或干重组织约30 mg，加入液氮充分碾磨。
2. 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有400 μl缓冲液GPM和5 μl RNase A (10 mg/ml) 的离心管中，迅速颠倒混匀后，将离心管放在70°C水浴10 min，水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。

注：若提取富含多糖多酚的植物组织，可使用缓冲液GPM plus。

3. 12,000 rpm (~13,400×g) 离心4 min，转移300 μl上清至新的离心管中。
4. 加入300 μl缓冲液GHB，300 μl异丙醇和15 μl磁珠悬浮液G，振荡混匀5 min。
5. 将离心管放置于磁力架上静置1 min，待磁珠完全吸附时小心去除液体。
6. 将离心管从磁力架上取下，加入500 μl去蛋白液RD (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，振荡混匀30 sec。
7. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
8. 加入600 μl漂洗液PWB (使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，振荡混匀30 sec。
9. 将离心管放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
10. 重复步骤8和9。
11. 将离心管于磁力架上，室温晾干10-15 min。

注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱DNA。

-
12. 将离心管从磁力架上取下，加入50-100 μ l洗脱缓冲液TB，振荡混匀，置于65 $^{\circ}$ C孵育3 min。
 13. 将离心管放置于磁力架上静置1 min，磁珠完全吸附后，小心将DNA溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。

二、移液法自动化仪器提取步骤

准备工作及注意事项:

1. 本产品可整合Hamilton Microlab STAR、Beckman Coulter Biomek[®] FX和Capitalbio LabKeeper等移液法自动化仪器进行高通量基因组提取工作。
2. 植物样本的处理：同手工操作步骤1-3，裂解完成后转移300 μ l上清至96孔深孔板内。
3. 磁珠稀释液的配制：按照15 μ l 磁珠悬浮液G加入85 μ l 异丙醇的比例混合，混合后每个样本用量为100 μ l。
4. 对于Hamilton Microlab STAR类的仪器，有放置2 ml离心管的板位，可以不使用异丙醇来稀释磁珠，异丙醇的加入体积仍为300 μ l。每个离心管可以放入1 ml左右的磁珠，吸取磁珠前吹打混匀5次，直接进行15 μ l磁珠的分液操作，分液完成后将磁珠管盖盖好保存。
5. 考虑仪器设定温度和96孔板内的实际温度有一定的偏差，在裂解和洗脱时建议仪器设定温度比实际使用温度高出10 $^{\circ}$ C。

提取步骤:

1. 在96深孔板(自备)中加入300 μ l处理好的植物样本上清液。
2. 每孔加入300 μ l裂解液GHB，吹吸6次。
3. 每孔加入215 μ l的异丙醇，吹吸6次。
4. 每孔加入100 μ l磁珠稀释液，吹吸6次，然后振荡混匀10 min。
5. 将深孔板放置于磁力架上静置2 min，磁珠完全吸附后，吸去液体。
6. 将深孔板从磁力架上取下，加入500 μ l去蛋白液RD，吹吸6次，振荡混匀2 min。
7. 将深孔板放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，吸去液体。
8. 将深孔板从磁力架上取下，加入600 μ l漂洗液PWB，吹吸6次，然后振荡混匀2 min。
9. 将深孔板放置于磁力架上静置30 sec，磁珠完全吸附后，吸去液体。
10. 重复步骤8和9一次。

-
11. 将深孔板置于磁力架上，37°C 晾干5 min。
 12. 将深孔板从磁力架上取下，加入50-100 μ l洗脱缓冲液TB，置于65°C，振荡混匀10 min。
 13. 将深孔板放置于磁力架上静置2 min，磁珠完全吸附后，小心将DNA溶液转移至收集板中，并于适当条件保存。

三、磁棒法自动化仪器提取步骤

准备工作及注意事项:

1. 本产品在Thermo KingFisher Flex等自动化仪器上整合成功。
2. 植物样本的处理：同手工操作步骤1-3，裂解完成后转移290 μ l上清至含有290 μ l缓冲液GHB和290 μ l异丙醇的96孔深孔板内。
3. 将含有植物样本上清液，缓冲液GHB和异丙醇、500 μ l去蛋白液RD、600 μ l漂洗液PWB和50-100 μ l洗脱缓冲液TB分别加到96孔板相应的位置上，将15 μ l磁珠G加入到500 μ l去蛋白液RD中。

提取步骤:

1. 将处理好的植物样本上清液加入到含有缓冲液GHB和异丙醇的96孔样品板里。
2. 将96孔板置于自动化提取仪中，室温孵育5 min，期间中速和快速间隔拍打混匀。
3. 使用磁力套深入到含有磁珠的去蛋白液RD的孔中，快速拍打混匀1 min，吹散磁珠。
4. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
5. 将磁珠转移到含有植物样本上清液，缓冲液GHB和异丙醇的孔中，释放磁珠，中速和快速间隔拍打混匀10 min。
6. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
7. 将磁珠转移到含有去蛋白液RD的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。
8. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
9. 将磁珠转移到含有第一遍漂洗液PWB的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。
10. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
11. 将磁珠转移到含有第二遍漂洗液PWB的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀3 min。
12. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次20 sec。
13. 磁力棒吸附磁珠后悬空晾干5 min。

-
14. 将磁珠转移到含有洗脱缓冲液TB的孔中，75℃ 孵育，快速拍打混匀10 min。
 15. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠3次，每次30 sec。
 16. 将吸附的废弃磁珠转移到含有去蛋白液RD的孔中，拍打混匀1 min。
 17. 程序结束后，小心将DNA溶液转移至收集板，并于适当条件保存。

DNA浓度及纯度检测

得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。

DNA应在OD₂₆₀处有显著吸收峰，OD₂₆₀值为1相当于大约50 μg/ml双链DNA、40 μg/ml单链DNA。

OD₂₆₀/OD₂₈₀比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。