

## 磁珠法植物 DNA 提取试剂盒说明书

### 产品组成

磁珠法植物 DNA 提取试剂盒	100 次
Cat. No.	M008100
Buffer PD	55 ml×2
β-巯基乙醇	300 μl
Buffer EX	45 ml
Buffer GP	20 ml
Buffer WN	90 ml
Buffer WB	90 ml
Buffer WG	90 ml
Buffer TE	15 ml
说明书	1 份

### 产品储存

试剂盒如果储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化；如果将产品贮存于 2~8℃，可延长产品的有效期至两年以上。

### 技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

### 产品介绍

本产品适合从 100~500mg 的新鲜植物组织或 20~50mg 干燥的植物组织（剪碎的叶片/花/茎/根/种子均可）中提取 DNA。植物样本经过研磨，分相两步预处理后，将预处理后的上清液中加入预分装的 96 孔板中的第 1 列和第 7 列，即可由仪器自动化完成样本中总 DNA 的释放、吸附、洗涤及洗脱等一系列过程，获得的 DNA 立即用于各种分子生物学实验。

### 用户需自备的试剂与物品

1. 无水乙醇
2. 2 ml 离心管
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 自动化核酸提取仪、配套磁棒套和 96 深孔板
5. 水浴锅与旋涡振荡器

### 使用前准备

将水浴锅温度设置到 65℃。并将 Buffer PD 在 65℃水浴锅中预热。

## 操作步骤（自动化提取版）：

### 1. 按步骤 A~F 在 96 孔板中预分装试剂：

- A. 在 96 深孔板第 1 列和第 7 列每孔加入 150  $\mu\text{l}$  Buffer GP；
- B. 用力摇晃装有磁珠的试剂瓶，使缓冲液中的磁珠颗粒充分悬浮，先在 96 深孔板第 5 列和第 11 列每孔加入 40  $\mu\text{l}$  磁珠后，再加入 810  $\mu\text{l}$  无水乙醇；
- C. 在 96 深孔板第 2 列和第 8 列每孔加入 800  $\mu\text{l}$  Buffer WN；
- D. 在 96 深孔板第 3 列和第 9 列每孔加入 700  $\mu\text{l}$  Buffer WB；
- E. 在 96 深孔板第 4 列和第 10 列每孔加入 800  $\mu\text{l}$  Buffer WG；
- F. 在 96 深孔板第 6 列和第 12 列每孔加入 100  $\mu\text{l}$  Buffer TE；

### 2. 样本预处理：

#### 1) 可选用以下方法研磨植物组织。

- A. 研磨机研磨：用 2ml 离心管称取 100~52.00 mg 植物组织，加入玻璃珠/钢珠，放入研磨机模块中，将模块放入液氮中冷冻 30 秒，即可将模块安装到研磨机上进行研磨。研磨结束后直接加入 1ml Buffer PD 和 2  $\mu\text{l}$   $\beta$ -巯基乙醇，旋涡振荡混合均匀。

- \* 根据样本数量，按每 ml Buffer PD 加入 2  $\mu\text{l}$   $\beta$ -巯基乙醇的比例预混好 Buffer PD 后加入可提高效率。
- \* 若样本未研磨至粉末状，可将离心管放回模块中再次经液氮冷冻后，重复研磨至粉末状。
- \* 必须将组织研磨至面粉状，否则会严重影响最终 DNA 的回收效率。
- \* 只有 DNA 含量低的样本（如土豆块茎、西瓜瓜瓤等）才推荐用到 500 mg 组织的用量；对于嫩叶、嫩芽等 DNA 含量高的样本，用量应控制在 200 mg 以内。

- B. 研钵研磨：称取 100~500 mg 植物样本研磨至粉末状后，直接加入 1ml Buffer PD 和 2  $\mu\text{l}$   $\beta$ -巯基乙醇，混匀后将裂解物全部转移到 2ml 离心管中。

- \* 根据样本数量，按每 ml Buffer PD 加入 2  $\mu\text{l}$   $\beta$ -巯基乙醇的比例预混好 Buffer PD 后加入可提高效率。
- \* 必须将组织研磨至面粉状，否则会严重影响最终 DNA 的回收效率。

2) 将 2ml 离心管置于 65°C 水浴 30 分钟。水浴期间每隔 5~10 分钟翻转离心管数次以帮助 DNA 的释放。

3) 加入 400  $\mu\text{l}$  Buffer EX，用力混合均匀，最高速 ( $\geq 12000\text{rpm}$ ) 离心 5 分钟。

4) 吸取 600  $\mu\text{l}$  上清液加入到步骤 1 预分装的 96 深孔板中。

5) 将 96 深孔板放入仪器，并插入磁棒套。

### 3. 程序设置与运行：按下图步骤设置核酸自动化纯化仪中的核酸提取程序，再点击“运行”。

步骤	孔位	液量 ( $\mu\text{L}$ )	浸泡 (秒)	搅拌强度 (级)	搅拌时间 (秒)	下降吸磁 (秒)	液底吸磁 (秒)	吸磁次数 (次)	等待时间 (秒)	暂停 关/开	板1裂解 (°C)	板1洗脱 (°C)	板2裂解 (°C)	板2洗脱 (°C)
1~99	1~6	20~1200	0~255	1~6	0~9999	5~600	0~255	0~255	0~9999	0/1	0~125	0~125	0~125	0~125
1	5	850	0	6	5	10	3	1	0	0	0	0	0	0
2	1	750	0	4	300	30	3	1	0	0	0	0	0	0
3	2	800	0	5	300	30	3	1	0	0	0	0	0	0
4	3	800	0	5	180	30	3	1	0	0	0	0	0	0
5	4	800	0	5	180	30	3	1	0	0	0	0	0	0
6	5	850	0	5	120	30	3	1	300	0	0	0	0	0
7	6	100	0	5	600	30	3	1	0	0	0	65	0	65
8	2	800	0	5	4	30	0	0	0	0	0	0	0	0

### 4. 仪器运行结束后，收集转移第 6 列和第 12 列中的 RNA 到洁净的 1.5 ml 离心管中；或直接用封口膜封住 96 深孔板，储存到 -20°C 以下备用。