

磁珠法多糖多酚植物组织基因组 DNA 提取试剂盒

MagBeads Polysaccharide & Polyphenol Plant Genomic DNA Extraction Kit

- 【目 录 号】 PTDE-6005 、 PTDE-6030 ；
- 【运输条件】 2~25 ；
- 【保存条件】 磁珠分散液、 -巯基乙醇 2~8 ；蛋白酶 K -20 ；其它组分室温保存；
- 【试剂盒组成】

Kit Component 试剂盒组成	PTDE-6005 ( 50T )	PTDE-6030 ( 300T )
PTDE-Buffer 裂解液	21mL	125mL
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)
PTDE Magnetic Beads 磁珠悬浮液	4mL	24mL
Wash Buffer 清洗液	30mL	180mL
Proteinase K 蛋白酶 K	1mL	6mL
-ME -巯基乙醇	42 μ L	250 μ L
Dealcohol Buffer 除醇液	20mL	120mL
Elute Buffer 洗脱液	5mL	30mL

- 【注意事项】
1. 使用前请检查 裂解液（组分 ） 和结合液（组分 ） 是否出现结晶，如有结晶请置于 65 温浴至重新溶解完全；
  2. 初次使用全新试剂盒前，请按照 结合液（组分 ） 标签标注量加入异丙醇，稀释备用；
  3. 磁珠悬浮液（组分 ） 不可反复冻融或离心，使用前需充分摇匀；
  4. 蛋白酶 K（组分 ） 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】

本试剂盒采用针对富含多糖多酚植物组织进行杂质去除的特殊磁珠，配合高性能缓冲液体系，可从各种富含多糖多酚植物组织样本中高质量的分离纯化基因组 DNA。

特殊技术包埋的磁珠在特定条件下对核酸具有极强的亲和力，而当条件改变时，磁珠会释放所吸附的核酸，从而达到快速分离纯化核酸的目的。提取所得的基因组 DNA 产物片段大、纯度高、质量稳定可靠，尤其适合高通量仪器自动化提取，特别是本公司生产的各类型号自动化核酸提取仪或工作站。使用本试剂盒纯化所得核酸产物可适用于各种常规分子生物学下游实验，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。

【试剂盒说明】

样本类型	最适提取量	核酸得量范围
各种类型富含多糖多酚植物组织	20~100mg	3~25 μg

【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 (1.5mL 或 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)。

【仪器自动法版操作步骤】

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. 准备 96 孔板

样品位	1、7	2、8	3、9	4、10	5、11	6、12
试剂	磁珠悬浮液 80 μL 清洗液 600 μL	结合液 550 μL (已加入异丙醇)	80% 乙醇 600 μL	80% 乙醇 600 μL	除醇液 400 μL	洗脱液 100 μL

参照下表用量，向 96 孔板相应孔位中分别加入对应试剂：

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。

2. 组织样本前处理和裂解

取适量 (100mg) 植物组织样本，液氮研磨至粉末状，尽量完全转移至 EP 管中。加入 400 μL 裂解液、0.8 μL -巯基乙醇 和 20 μL 蛋白酶 K，涡旋振荡 1~3min 至混合均匀，呈云雾状。65 温浴 15min，每隔 5~10min 上下颠倒混匀一次。

注：1) 若样本量大于 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 μL 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、 $\beta$ -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  $\mu$  LRNase A 溶液。

3. 上机提取

将裂解完毕样本室温（勿低于 15 ）、13000rpm 离心10min，吸取200~400  $\mu$  止清液转移到在 96孔板的 2/8列孔位。将96孔板置于 ETP-300 型核酸提取仪中，并插入磁棒套；打开仪器操作软件，调用“ 植物组织 DNA提取实验方法 ”程序，点击“ 运行 ”执行程序。

“ 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 ( )	二组温度 ( )	三组温度 ( )	四组温度 ( )
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

4. 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管或者PCR板中，提取过程完毕，此时可以弃去 96孔板。

【手动法版操作步骤】

1. 组织样本前处理和裂解

参照【仪器自动版操作步骤】 中步骤 2进行操作。

2. 核酸结合

将裂解完毕 EP管室温（勿低于 15 ）、13000rpm 离心10min，吸取 200~400  $\mu$  止清液转移至另一只干净 EP管中，加入 80 $\mu$  磁珠悬浮液 以及550  $\mu$  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 600 $\mu$  L清洗液，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）。

## 5. 清洗 2

使用 600  $\mu$  L 80% 乙醇，参照 步骤 4 操作 2 次。

## 6. 除醇

将除尽上清液后的 EP 管保持在磁力架上，切勿取下，加入 800  $\mu$  L 除醇液，迅速手动摇动 EP 管冲洗磁性吸附的磁珠表面，并快速弃去除醇液。

注：若植物组织糖类或多酚类物质含量较高，此时 EP 管壁上会吸附少量特异性结合了杂质的磁珠，尽量弃去除醇液和管壁上的除杂磁珠。

## 7. 洗脱

取出除醇完毕的 EP 管，加入 100  $\mu$  L 洗脱液（或去离子水）至管底，小心吹散磁珠，切勿溶解或吸取到管壁上的除杂磁珠。将重悬后磁珠转移至另一干净 EP 管中，65  $^{\circ}$ C 温浴 5min，然后涡旋洗脱 2min，确保磁珠与核酸完全洗脱解离。

注：洗脱液要求大于 50  $\mu$  L，100~200  $\mu$  L 较好，洗脱液体积较少时会影响核酸得率。

## 8. 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，此时可弃去磁珠。

（0702 修订版）

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：

V201702.231