



Magbead Plant DNA Kit

磁珠法植物DNA提取试剂盒

目录号： CW2528S（96 Preps）

保存条件： 室温（15-30℃）

产品内容

Component	CW2528S 96 preps
Buffer PLS	50 mL
Buffer ZB	55 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer TB	10 mL
RNase A (10 mg/mL)	0.6 mL
Magbeads PN	2×1 mL

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 TB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。

自备仪器、试剂

1. CWE2100或CWE9600
2. 96 DW Plate, 8 tip Com, Spin tips pack
3. 无水乙醇

实验前准备以及注意事项

1. 第一次实验前按照试剂瓶标签上的说明向Buffer GW1中加入指定用量的无水乙醇；
2. 客户需配置75%乙醇用于漂洗；
3. 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。

操作步骤

手动操作

1. 植物材料的破碎：

方案1：

1)称取经液氮充分研磨好的新鲜植物样品粉末约50-100 mg或干燥样品粉末约30 mg，迅速转移到预先装有400 μ L Buffer PLS和5 μ L RNase A (10 mg/mL)的离心管中，迅速颠倒混匀后，瞬时离心，置于恒温混匀仪70 $^{\circ}$ C，1600 rpm，10 min。（提取多糖多酚植物在Buffer PLS中加入 β 巯基乙醇，使其终浓度为5%，可提高核酸提取效果）

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；

向离心管中加入400 μ L Buffer PLS和5 μ L RNase A (10 mg/mL)，迅速颠倒混匀后置于恒温混匀仪70 $^{\circ}$ C，1600 rpm，10 min。（提取多糖多酚植物在Buffer PLS中加入 β 巯基乙醇，使其终浓度为5%，可提高核酸提取效果）

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 PLS、5 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，瞬时离心，置于恒温混匀仪70 $^{\circ}$ C，1600 rpm，10 min。
2. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心4 min后，转移全部上清至新的1.5 mL离心管中。
 3. 向1.5 mL离心管中加入550 μ L Buffer ZB和20 μ L Magbeads PN，颠倒混匀30 s，瞬时离心，室温静置5 min，其间颠倒混匀数次。
 4. 瞬时离心，将离心管转移至磁力架吸附1min（直至溶液澄清），之后弃去溶液，期间避免接触磁珠。
 5. 将离心管从磁力架上取下，加入650 μ L Buffer GW1，涡旋混匀10 s，重悬磁珠，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。
 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. 重复步骤5-6；
 8. 将离心管从磁力架上取下，加入650 μ L 75%乙醇，涡旋混匀10 s，重悬磁珠，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。

9. 将离心管固定于磁力架上静置1 min，之后充分弃去溶液
10. 重复步骤8-9；
11. 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；
12. 向离心管中加入100 μL Buffer TB，涡旋震荡时磁珠充分悬浮与洗脱液中后将其放于65 $^{\circ}\text{C}$ 、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解10分钟，或在65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴锅中孵育10 min,期间涡旋震荡4次。
13. 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 $^{\circ}\text{C}$ 保存备用。

与CWE2100匹配

1. 植物材料的破碎：

方案1：

1)称取经液氮充分研磨好的新鲜植物样品粉末约50-100mg或干燥样品粉末约30 mg，迅速转移到预先装有400 μL Buffer PLS和5 μL RNase A (10 mg/mL)的离心管中，迅速颠倒混匀后，瞬时离心，置于恒温混匀仪70 $^{\circ}\text{C}$ ，1600 rpm，10 min。（提取多糖多酚植物在Buffer PLS中加入 β 巯基乙醇，使其终浓度为5%，可提高核酸提取效果）

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 μL Buffer PLS和5 μL RNase A (10 mg/mL)，迅速颠倒混匀后置于恒温混匀仪70 $^{\circ}\text{C}$ ，1600 rpm，10 min。（提取多糖多酚植物在Buffer PLS中加入 β 巯基乙醇，使其终浓度为5%，可提高核酸提取效果）

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 μL Buffer PLS、5 μL 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，瞬时离心，置于恒温混匀仪70 $^{\circ}\text{C}$ ，1600rpm，10 min。
2. 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心4 min后，转移全部上清至96 DW深孔板中；
3. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
1&7Colume	Lysate: ALL Buffer ZB: 550 μL Magbeads PN: 20 μL
2&8Colume	Buffer GW1: 650 μL
3&9Colume	Buffer GW1: 650 μL
4&10Colume	75%乙醇: 650 μL
5&11 Colume	75%乙醇: 650 μL
6&12Colume	Buffer TB: 100 μL

4. 将96 DW深孔板以及磁棒套放于CWE2100仪器中，运行Cwin Plant程序。
5. 约50 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℃保存备用。

与CWE9600匹配

1. 方案1:

1) 称取经液氮充分研磨好的新鲜植物样品粉末约50-100 mg或干燥样品粉末约30 mg，迅速转移到预先装有400 μ L Buffer PLS和5 μ L RNase A (10 mg/mL) 的离心管中，迅速颠倒混匀后，瞬时离心，置于恒温混匀仪70℃，1600 rpm，10 min。（提取多糖多酚植物在Buffer PLS中加入5% β 巯基乙醇，可提高核酸提取效果）

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 PLS和5 μ L RNase A (10 mg/mL)，迅速颠倒混匀后置于恒温混匀仪70℃，1600rpm，10 min。（提取多糖多酚植物在Buffer PLS中加入5% β 巯基乙醇，可提高核酸提取效果）

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 PLS、5 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机中震荡破碎；
 3) 将离心管从组织破碎机中取出后，瞬时离心，置于恒温混匀仪70℃，1600 rpm，10 min。

2. 12,000 rpm (~13,400×g)离心4 min后，转移全部上清至96 DW深孔板中；
3. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂：

位置	试剂及用量
Plate 1	Lysate: ALL Buffer ZB: 550 μ L Magbeads PN: 20 μ L
Plate 2	Buffer GW1: 650 μ L
Plate 3	Buffer GW1: 650 μ L
Plate 4	75%乙醇: 650 μ L
Plate 5	75%乙醇: 650 μ L
Plate 6	Buffer TB: 100 μ L

4. 将96 DW深孔板以及磁棒套放于CWE9600仪器中，运行程序。
5. 约50 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1.5 mL离心管中-20℃保存备用。