

## MagPure Plant HW DNA Kit

### 磁珠法植物高分子量 DNA 试剂盒

本产品为植物或真菌样品的高分子量 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，再经含乙醇洗液洗涤去除盐分，最后 DNA 被低盐缓冲液(Elution Buffer)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

产品编号	D6385-01	D6385-02	D6385-03
纯化次数 (小提)	48 次	96 次	5 × 96 次
RNase Solution	0.6 ml	1.1 ml	6 ml
Proteinase K Solution	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
MagPure Particles G2	1.2 ml	2.5 ml	11 ml
Buffer PAL	50 ml	100 ml	500 ml
PVP-40 Solution	2.5 ml	5 ml	25 ml
Buffer CXP	30 ml	60 ml	220 ml
Buffer GW1*	44 ml	88 ml	2 × 220 ml
Buffer GW2*	20 ml	30 ml	2 × 100 ml
Buffer BW3	35 ml	70 ml	350 ml
Elution Buffer	10 ml	30 ml	100 ml

#### 保存条件

本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Solution 、RNase Solution 和 MagPure Particles G2 (磁珠液) 保存于 2-8°C，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

#### 产品组份

货号	试剂组份与装量	D6385-TL-06	D6385-S-48
RNase Solution		1.1 ml	0.6 ml
Proteinase K Solution		2.5 ml	1.2 ml
Buffer PAL		100 ml	50 ml
PVP-40 Solution		5 ml	2.5 ml
TL-Tip		12 个	24 个
尖底板 试剂条	1/7孔: 500μl Buffer CXP(30% 异丙醇) 2/8孔: 600μl Buffer GW1 3/9孔: 600μl Buffer GW1 4/10孔: 600μl Buffer GW2 MagPure Particles G2 5/11孔: 600μl Buffer GW2 6/12孔: 100μl Elution Buffer	6 块	48 条

**保存条件** 本产品室温运输，长期保存时，把 Proteinase K Solution 和 RNase Solution 保存于 2-8℃，其余产品保存于室温，有效期 18 个月。

## 准备工作

- PVP-40 Solution 添加：处理某些复杂样品，加入 PVP-40 Solution 至 Buffer PAL，终浓度为 2%，可以提高裂解液的抗氧化能力。
- 可选：2-巯基乙醇的添加：处理某些复杂容氧化的植物样品，加入 2 巍基乙醇至 Buffer PAL，终浓度为 2%)可以提高裂解液的抗氧化能力。即 1ml Buffer PAL 中，加入 20μl 2-巯基乙醇。由于巯基乙醇气味大，可以用无气味无毒的 TCEP 代替（货号）。
- Buffer CXP (30%异丙醇):按 7ml Buffer CXP 加入 3ml 异丙醇，颠倒混匀。
- Buffer GW1/GW2 使用前，须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

## 第一部分. 小量提取

1. 用液氮将样品研磨成粉末状，转移 100~200mg 粉末至 2.0ml 离心管，加入 0.7 ml Buffer PAL 和 20  $\mu$ l Proteinase K Solution，涡旋混匀使样品充分分散，65°C 温育 15 分钟，期间颠倒混匀数次。
2. 可选，难提样品：加入 0.7ml 氯仿至裂解液中，涡旋 10 秒。
3. 13,000  $\times g$  离心 5 分钟，转移 500 $\mu$ l 上清液至新的离心管中，加入 10 $\mu$ l RNase Solution，颠倒混匀，室温放置 15~20 分钟消化去除 RNA。
4. 加入 500 $\mu$ l Buffer CXP (30% 异丙醇)，颠倒混匀 10~15 次，静置 1~3 分钟让沉淀溶解。
5. 加入 20 $\mu$ l MagPure Particles G2，颠倒混匀 10~15 次，室温静置 5 分钟，其间颠倒混匀数次，磁力架静置 1 分钟，倒弃或吸弃溶液，瞬离后再吸弃残液。
6. 加入 0.6ml Buffer GW1，涡旋混匀 10 秒，磁力架静置吸磁，倒弃溶液，瞬离再吸弃残液。
7. 加入 0.6ml Buffer GW1，涡旋混匀 10 秒，磁力架静置吸磁，倒弃溶液，瞬离再吸弃残液。
8. 加入 0.6ml Buffer GW2，涡旋混匀 10 秒，磁力架静置吸磁，倒弃溶液，瞬离再吸弃残液。
9. 加入 0.6ml Buffer GW2，涡旋混匀 10 秒，磁力架静置吸磁，倒弃溶液，瞬离再吸弃残液。
10. 不要取下离心管中，加入 0.6ml Buffer BW3，不要打散磁珠，静置 60 秒，小心吸弃溶液。
11. 加入 100~150 $\mu$ l Elution Buffer，轻轻拍打让磁珠从壁上脱落并重悬，55°C, 600~800rpm 振荡温育 10 分钟让 DNA 充分溶解。磁力架上吸附 1 分钟，把 DNA 转移至新的离心管中。

## 第二部分. 中量提取

1. 用液氮将样品研磨成粉末状，转移 250~500mg 粉末至 10ml 离心管中，加入 2.0 ml Buffer PAL 和 40 $\mu$ l Proteinase K Solution，涡旋使样品充分分散，65°C 温育 15 分钟，期间颠倒混匀数次。
2. 可选，难提样品：加入 2.0 ml 氯仿至裂解液，涡旋 10 秒。
3. 10,000 rpm 离心 10 分钟，转移 1.5ml 上清液至新的离心管中，加入 30 $\mu$ l RNase Solution，颠倒混匀，室温放置 15~20 分钟消化去除 RNA。
4. 加入 1.5ml Buffer CXP (30% 异丙醇)，颠倒混匀 10~15 次混匀，静置 1~3 分钟让沉淀溶解。
5. 加入 60  $\mu$ l MagPure Particles G2，颠倒混匀 10~15 次，室温静置 3 分钟，其间颠倒混匀数次，磁力架静置 1~2 分钟，倒弃或吸弃溶液，瞬离后再吸弃残液。

6. 加入 1.5 ml Buffer GW1, 涡旋混匀 10 秒, 静置 1 分钟, 倒弃溶液, 瞬离再吸弃残液。
7. 加入 1.5ml Buffer GW1, 涡旋混匀 10 秒, 磁力架静置吸磁, 倒弃溶液, 瞬离再吸弃残液。
8. 加入 1.5ml Buffer GW2, 涡旋混匀 10 秒, 磁力架静置吸磁, 倒弃溶液, 瞬离再吸弃残液。
9. 加入 1.5ml Buffer GW2, 涡旋混匀 10 秒, 磁力架静置吸磁, 倒弃溶液, 瞬离再吸弃残液。
10. 不要取下离心管, 加入 1.5ml Buffer BV3, 不要打散磁珠, 静置 60 秒, 小心吸弃溶液。
11. 加入 100~300  $\mu$ l Elution Buffer, 轻轻拍打让磁珠从壁上脱落并重悬, 55° C, 600~800rpm 振荡温育 10 分钟让 DNA 充分溶解。磁力架上吸附 1 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: 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. 在第 1/7 排孔加入 500 $\mu$ l 上清液 (第一部分第 4 步)。
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. 启动程序, 约 30 分钟, 结束提取。取出 96 孔板和磁力外套。
5. 把 DNA 转移至 1.5ml 离心管中, 把产物保存于-20~8°C。

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	混匀	1	950	90	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
2	清洗	3	600	10	7	0	0	0	0	0	自动	/	/
3	吸磁	4	600	30	7	0	0	60	0	0	自动	/	/
4	结合	1	900	300	7	0	0	120	0	0	自动	/	/
5	清洗1	2	600	90	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
6	清洗2	3	600	90	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
7	清洗3	4	600	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
8	清洗4	5	500	60	8	0	0	60	0	0	自动	/	/
9	干燥	5	600	0	8	5 min		0	0	0	自动	/	/
10	洗脱1	6	100	180	8	0	0	0	0	0	自动	6	55
11	洗脱2	6	100	420	6	0	0	90	0	40	自动	6	55
12	弃磁	4	500	30	9	0	0	0	0	0	自动	/	/