



Magbead Plant DNA Kit

磁珠法植物组织DNA提取试剂盒

Cat. No.: CW2528S

保存条件：室温（15-30℃）

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。

产品内容

Component	CW2528S 96 Preps
Buffer PLS	60 mL
Buffer ZB	55 mL
Buffer GW1 (concentrate)	80 mL
Buffer TB	10 mL
RNase A (10 mg/mL)	0.6 mL
Magbeads PN	2x1 mL

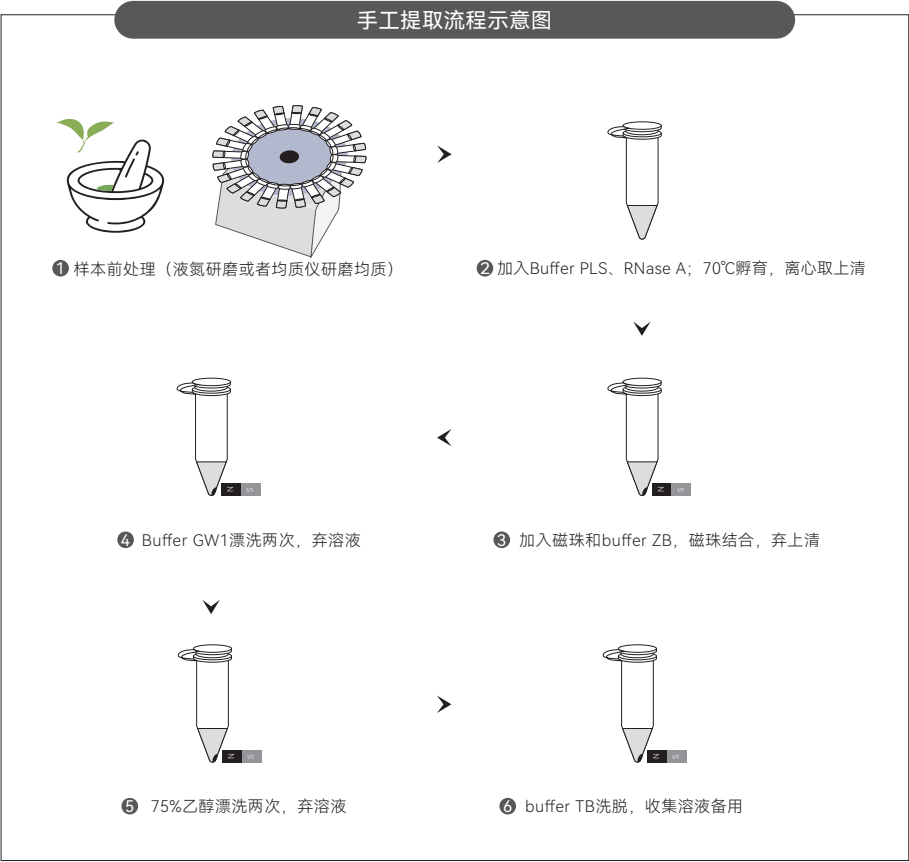
自备仪器、试剂

- 1. CWE2100或CWE960
- 2. 96 DW Plate, 8 tip Comb, 96 Tip comb
- 3. 无水乙醇

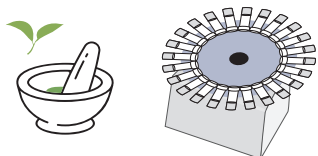
注意事项

- 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



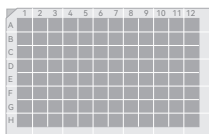
核酸提取仪自动化提取流程示意图



① 样本前处理（液氮研磨或者均质仪研磨均质）

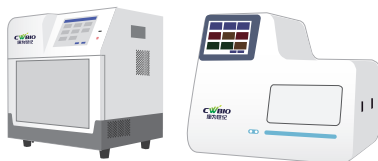


② 加入Buffer PLS、RNase A；70℃孵育，离心取上清



③ 颠倒混匀预封装试剂，离心或轻甩，避免挂液

④ 转移全部上清至96 DW深孔板中，按要求向96DW深孔板中加入相应试剂



⑤ 放入仪器，运行程序

⑥ 转移核酸，得到纯化的DNA

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400-600 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°C, 1600 rpm, 10 min。

注意：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) 液氮速冻后用研磨杵将植物材料充分研磨至粉状;
3) 向离心管中加入400-600 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°C, 1600 rpm, 10 min。

注意：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 -600 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°C, 1600 rpm, 10 min。

注意：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。

手动操作

1. （上接植物材料破碎步骤）12,000 rpm ($\sim 13,400\times g$)离心4 min后，转移全部上清至新的1.5 mL离心管中。向1.5 mL离心管中加入550 μL Buffer ZB和20 μL Magbeads PN，颠倒混匀30 s，瞬时离心，
2. 室温静置 5 min，其间颠倒混匀数次。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。
3. 将离心管从磁力架上取下，加入650 μL Buffer GW1，涡旋混匀10 s，重悬磁珠，之后将离心管固定于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2 min或涡旋震荡1 min。
4. 将离心管固定于磁力架上静置1 min，之后充分弃去溶液；
5. 重复步骤3-4；
6. 将离心管从磁力架上取下，加入650 μL 75% 乙醇，涡旋混匀10 s，重悬磁珠，之后将离心管固定于25°C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡混匀2 min或涡旋震荡1 min。
7. 将离心管固定于磁力架上静置1 min，之后充分弃去溶液。
8. 重复步骤6-7。
9. 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；
10. 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°C、1600 rpm的恒温混匀仪上震荡裂解10分钟，或在65°C水浴锅中孵育10 min，期间涡旋震荡4次。
11. 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°C保存备用。

与CWE2100匹配自动化提取:

1. (上接植物材料破碎步骤) 12,000 rpm (~13,400×g)离心4 min后, 转移全部上清至96 DW 深孔板中。
2. 按下表向96 DW深孔板中加入试剂:

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

3. 将96 DW深孔板以及磁棒套放于CWE2100仪器中, 运行“Cowin Plant”程序。
4. 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CWE960匹配自动化提取:

1. (上接植物材料破碎步骤) 12,000 rpm (~13,400×g)离心4 min后, 转移全部上清至96 DW 深孔板中;
2. 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 µL Magbeads PN: 20 µL
Plate 2	Buffer GW1: 650 µL
Plate 3	Buffer GW1: 650 µL
Plate 4	75%乙醇: 650 µL
Plate 5	75%乙醇: 650 µL
Plate 6	Buffer TB: 100 µL

3. 将 96 DW深孔板以及磁棒套放于CWE960仪器中, 运行程序。
4. 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。

结果分析

DNA浓度应通过分光光度计测量 260 nm (A260) 处的吸光度来确定。DNA在 260 nm处有显著吸收峰, 吸光度读数应在0.1至1.0, 如果不在此范围, 则需要稀释或浓缩样品。在 260 nm处, 1个单位的吸光度对应于每毫升 50 µg 的DNA (A260=1→50 µg/mL)。洗脱液中磁珠的残留可能会影响A260读数, 但不会影响下游DNA的性能。

DNA样本浓度=50 µg/mL× (A260-A320) ×稀释倍数

DNA总量=浓度×样本体积 (mL)

DNA纯度通过计算260 nm与280 nm处的校正吸光度 (减去320 nm处获得的吸光度读数, 以纠正磁性颗粒的存在) 之比来确定, 即(A260-A320)/(A280-A320)。纯DNA的A260/A280比值为1.7-1.9。

相关产品

Cat. No.	产品名称
CW3048	CWseq Universal DirectFast DNA Library Prep Kit
CW3047	CWseq Super HiFi Amplification Mix for NGS
CW3347	SuperFastStar Probe Mixture
CW3360	SuperStar Universal SYBR Master Mix-SYBR
CW3364	Lyophilized SuperFast Universal SYBR Master Mix