



产品组分

组分名称	组分编号	100 RXN	保存条件
Mag Buffer RLJ	RM30565	70 mL	RT
Mag Buffer BDI	RM30566	50 mL	RT
Mag Buffer WP1	RM30567	150 mL	RT
Mag Buffer WP2&Beads	RM30568	75 mL	RT
Mag Buffer WP2	RM30569	75 mL	RT
Mag Buffer EB	RM30229	20 mL	RT
CY Reagent	RM30325	2 × 1 mL	-20°C
RNase A (10 mg/mL)	RM30304	600 µL	-20°C

产品说明

本试剂盒是基于高特异结合力生物纳米磁珠的核酸提取试剂盒, 主要原理是利用功能性生物磁珠表面的功能基团, 将核酸从样品裂解产物中富集至磁珠表面, 并经洗涤液去除蛋白质和其他杂质, 再利用磁性分离装置对磁珠进行分离, 从而快速分离纯化 DNA。整个过程不需要用到苯酚、氯仿和β-巯基乙醇等有害物质, 安全无毒, 并且利用具有顺磁性的生物纳米磁珠, 适合高通量自动化提取, 提取产物可直接用于 PCR、RT-qPCR、芯片分析、二代测序建库、Southern Blot 和分子克隆等下游实验。

储存条件及有效期

RNase A 和 CY Reagent 置于-20°C保存, 试剂盒其他组分置于室温(10 ~ 30°C)保存。

适用样本

样本类型	适用植物种类
叶片	红薯、棉花、水稻、玉米、小麦、烟草、大豆
种子	水稻、小麦、玉米、大豆

注意事项

1. 样本提取应在规定的实验场所进行, 穿戴防护衣物、一次性手套和口罩。
2. 实验前应对自动核酸提取仪进行紫外线消毒, 并用 75%乙醇定期清理实验台和样本提取专用移液器。
3. 接触试剂的材料均要求干燥、洁净, 以防止污染。
4. 使用前检查试剂的密封状态是否完好, 如低温下试剂有沉淀析出, 请将试剂在 65°C烘箱放置 30 min 左右, 混匀澄清后使用。注意: 放进烘箱的试剂请保持密封状态, 预分装试剂不要撕开铝膜。
5. 装有磁珠的深孔板或试剂瓶使用前一定要充分摇匀。
6. DNA 产量和纯度问题: 植物提取的高质量 DNA 在测定分光光度计时, 其 A260/A280 比值在 1.7-2.2 之间, A260/A230 比值在 1.7-2.2 之间。若出现 A260/A280 的比值异常, 则暗示有蛋白质的残留, 结合琼脂糖凝胶电泳检测可进一步排除是否有蛋白残留, 如琼脂糖凝胶电泳显示有较为明显的点样孔发亮和条带弥散拖尾, 则表明有蛋白质残留。

操作说明

实验前准备

1. RNase A 的使用方法:

上机前, 在洗脱孔中 (适用于 S-96/N-96 提取仪的为⑥号 96 孔板, 适用于 S-16/S-48 提取仪的为 96 孔板第 5/11 列) 加入 5 μ L RNase A, 避免酶活性丧失。

2. CY Reagent 的使用方法:

操作前在 Mag Buffer RLJ 中加入 CY Reagent 至终浓度为 2.5%, 此裂解液配制完成后最好当天用完。

表 1. 裂解液配制-组分加入量

组分	600 μ L 裂解液	700 μ L 裂解液	1000 μ L 裂解液
	加入量		
Mag Buffer RLJ	585 μ L	682.5 μ L	975 μ L
CY Reagent	15 μ L	17.5 μ L	25 μ L

样本裂解和消化

A. 幼嫩植物叶及黄化苗样本适用方法①②③④⑤。

B. 植物种子样本适用方法①④。

C. 植物原生质体适用方法⑥。

以上经液氮研磨的样本粉末按照干磨-裂解方式进行裂解操作。

液氮手动研磨	液氮自动研磨	湿磨-裂解	干磨-裂解																		
①研钵 将植物样本处理成小块放入研钵,并全程在液氮浸泡条件下,使用研磨杵用力将植物组织研磨至细粉状。	③小量组织 将植物样本放入含3颗5 mm钢珠的2 mL离心管中,盖紧盖子放入液氮中冷冻30 s,同时将研磨仪的适配器放入液氮冷冻30 s。使用研磨仪60 Hz,30 s研磨3次,每次研磨暂停后液氮冷冻30 s再继续研磨。	⑤湿磨（仅新鲜样本） 将植物样本放入含3颗5 mm钢珠的2 mL离心管中,依据下表推荐加入Mag Buffer RLJ(请确认已加入终浓度2.5%的CY Reagent)。 <table><tr><th>样本量 (mg)</th><th>Mag Buffer RLJ 体积(μL)</th></tr><tr><td>25-100</td><td>600</td></tr><tr><td>100-200</td><td>700</td></tr><tr><td>200-300</td><td>1000</td></tr></table> 使用研磨仪60 Hz运行5 min。 60℃金属浴加热30 min。15,000 rpm,4℃离心10 min。	样本量 (mg)	Mag Buffer RLJ 体积(μL)	25-100	600	100-200	700	200-300	1000	液氮研磨样本 准备无酶的1.5 mL离心管,液氮预冷后分装研磨好的粉末,并依据下表推荐加入Mag Buffer RLJ(请确认已加入终浓度2.5%的CY Reagent)。 <table><tr><th>样本量 (mg)</th><th>Mag Buffer RLJ 体积(μL)</th></tr><tr><td>25-100</td><td>600</td></tr><tr><td>100-200</td><td>700</td></tr><tr><td>200-300</td><td>1000</td></tr><tr><td>*种子 10-100</td><td>1000</td></tr></table> 涡旋振荡器充分振荡3 min,60℃金属浴加热30 min;15,000 rpm,4℃离心10 min。	样本量 (mg)	Mag Buffer RLJ 体积(μL)	25-100	600	100-200	700	200-300	1000	*种子 10-100	1000
样本量 (mg)	Mag Buffer RLJ 体积(μL)																				
25-100	600																				
100-200	700																				
200-300	1000																				
样本量 (mg)	Mag Buffer RLJ 体积(μL)																				
25-100	600																				
100-200	700																				
200-300	1000																				
*种子 10-100	1000																				
②研磨棒 将植物样本处理成小块放入1.5 mL离心管中,然后浸泡在液氮中。使用液氮预冷的研磨棒旋转研磨样本,直到植物样本呈细粉状。	④大量组织、硬组织、含水量高组织 使用15/30/50 mL规格的钢罐与适配的研磨仪进行。先将钢罐放在液氮中预冷,然后将植物样本放进钢罐中,拧紧钢罐再次液氮冷冻30 s后放入研磨仪,60 Hz,30 s研磨3次,每次研磨暂停后液氮冷冻30 s再继续研磨。	⑥直接裂解 100 g soft模式离心2 min后小心弃掉细胞上清,加入400 μL Mag Buffer RLJ和20 μL CY Reagent,振荡混匀1-2 min,60℃金属浴裂解30 min。																			
研磨完后迅速转移至液氮预冷的保存管中,需要长期保存放置于-80℃冰箱中,立即开展提取实验则放置在液氮中。		离心后,将离心管取出放置在冰上,待准备好提取试剂后,取上清500 μL转移至①号96孔板或96孔板的第1/7列上机提取或离心管手动提取。																			

自动提取

1. 打开仪器电源，待仪器完成自检后，按如下表所示，设置仪器参数。

表 2. S-96 全自动核酸提取仪提取参考程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	4	1	2	3	4	5	6	4
等待时间	0:0:0	0:0:0	0:0:0	0:0:0	0:0:0	0:0:0	0:2:0	0:0:0
混合时间	0:0:30	0:5:0	0:2:0	0:2:0	0:2:0	0:2:0	0:10:0	0:0:10
混合速度	6	1	6	6	6	6	2	6
吸磁时间	1:0	1:0	1:0	1:0	1:0	1:0	2:0	0:0
裂解温度℃: 25.0			洗脱温度℃: 60.0			4℃保存: 0:0		

表 3. N-96 全自动核酸提取仪提取参考程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	4	1	2	3	4	5	6	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	6	1	6	6	6	6	2	6
混合时间	00:00:30	00:05:00	00:02:00	00:02:00	00:02:00	00:02:00	00:10:00	00:00:10
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:02:00	00:00:00
体积	700 μL	950 μL	700 μL	700 μL	700 μL	700 μL	100 μL	700 μL
温度	--	25℃	--	--	--	--	60℃	--

表 4. S-48/S-16 全自动核酸提取仪提取参考程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七	八
工位	4	1	2	3	4	6	5	4
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	3	1	3	3	3	3	2	3
混合时间	00:00:30	00:05:00	00:02:00	00:02:00	00:02:00	00:02:00	00:10:00	00:00:10
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:02:00	00:00:00
体积	700 μL	950 μL	700 μL	700 μL	700 μL	700 μL	100 μL	700 μL
温度	--	25℃	--	--	--	--	60℃	--

2. 预分装试剂，如发现因运输过程造成的试剂倒放，请使用板式离心机，在低转速（不超过 500 rpm）下离心 1 min，将试剂集中到板底。

小心撕去铝膜，避免 96 孔板震动，以防液体飞溅。

3. 非预分装试剂，请预先将各组分（使用前务必充分摇匀）按照下表进行分装并做好标记。

表 5. 不同试剂分装量及对应布板位/工位

组分名称	试剂分装量	S-96/N-96 提取仪对应工位	S-16/S-48 提取仪对应工位
Mag Buffer BDI	450 μL	工位 1（标记①号 96 孔板）	工位 1（96 孔板第 1/7 列）
Mag Buffer WP1	700 μL	工位 2（标记②号 96 孔板）	工位 2（96 孔板第 2/8 列）
Mag Buffer WP1	700 μL	工位 3（标记③号 96 孔板）	工位 3（96 孔板第 3/9 列）
Mag Buffer WP2&Beads	700 μL	工位 4（标记④号 96 孔板）	工位 4（96 孔板第 4/10 列）
Mag Buffer WP2	700 μL	工位 5（标记⑤号 96 孔板）	工位 6（96 孔板第 6/12 列）
Mag Buffer EB	50-100 μL	工位 6（标记⑥号 96 孔板）	工位 5（96 孔板第 5/11 列）

4. 取 500 μL 离心后的样本上清转移至工位 1 (适用于 S-96/N-96 提取仪的为①号 96 孔板, 适用于 S-16/S-48 提取仪的为 96 孔板第 1/7 列)。放置好磁棒套, 关闭舱门, 开始运行提取程序。
5. 程序结束后, 仪器会自动停止, 取出 96 孔板, 提取的 DNA 在 S-96/N-96 提取仪上⑥号 96 孔板或 S-16/S-48 提取仪上 96 孔板的第 5/11 列。将 DNA 转移至新的离心管中, -20°C 短暂保存, -80°C 长期保存。

手动提取

1. 将 Mag Buffer WP2&Beads 充分振荡混匀, 按提取样品数量准备 1.5 mL 离心管, 每管吸取 700 μL Mag Buffer WP2&Beads。置于磁力架上吸磁 1 min, 保留磁珠, 并将上清转移至新的离心管中待用 (上清即为 Mag Buffer WP2)。
2. 充分摇匀 Mag Buffer BDI 后, 吸取 450 μL Mag Buffer BDI 转移至上一步装有磁珠的离心管中。
3. 吸取 500 μL 离心后的样本上清 (若离心后的上清液较多, 可最多吸取 1000 μL 的上清液) 转移至上一步装有 Mag Buffer BDI 与磁珠的离心管中。振荡混匀 5 min, 置于磁力架吸磁 1 min, 弃掉全部上清。

注: 如有絮状沉淀产生属正常现象, 振荡充分混匀即可。

4. 从磁力架取出离心管, 加入 700 μL Mag Buffer WP1。振荡混匀 2 min, 置于磁力架吸磁 1 min, 弃掉全部上清。
5. 从磁力架取出离心管, 加入 700 μL Mag Buffer WP1。振荡混匀 2 min, 置于磁力架吸磁 1 min, 弃掉全部上清。
6. 向离心管加入步骤 1 中收集的 700 μL Mag Buffer WP2。振荡混匀 2 min, 置于磁力架吸磁 1 min, 弃掉全部上清。
7. 从磁力架取出离心管, 加入 700 μL Mag Buffer WP2。振荡混匀 2 min, 置于磁力架吸磁 1 min, 弃掉全部上清。
8. 开盖晾干 2 min, 晾干磁珠的同时, 将洗脱液于 60°C 预热。待磁珠晾干后加入 50-100 μL Mag Buffer EB 和 5 μL RNase A, 在 60°C 旋转金属浴上加热溶解 10 min。置于磁力架吸磁 2 min, 转移全部液体至新的离心管中 (注意不要吸到磁珠), -20°C 短暂保存, -80°C 长期保存。