版本号：FMI1228

FineMag Plant DNA Kit

FineMag 磁珠法植物基因组提取试剂盒

目录号:FM302

产品内容：

产品组成	FM302 （50 preps）
Buffer MLP1plus	30 ml
Buffer MLT	35 ml
Buffer MW	40 ml
Buffer MWE2	24 ml
RNase A（100 mg/ml）	300 µl
FineMag Particles E	0.8 ml
Buffer EB	15 ml

储存条件：

试剂盒中所有组分可在室温(15-25˚C)干燥保存12个月。Buffer MLP1plus在低温下可能会有沉淀析出，可在37˚C水浴中重新溶解，摇匀后使用。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介：

FineMag Plant DNA Kit 为植物样品的 DNA 快速制备提供了一个简单快速的解决方案。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术，提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提，也无需进行耗时的醇类沉淀，整个提取过程只需 60 分钟。该试剂盒可整合磁棒法或移液法自动核酸提取仪进行高通量提取实验，也可使用磁力分离架进行手工操作。

FineMag 纯化系统以超顺磁性的纳米磁性粒子为基质，这种磁性粒子在高浓度离液剂的条件下可通过氢键和静电特异的吸附核酸，而蛋白质或其它非特异吸附的少量杂质经洗涤被去除，最后用低盐缓冲液或 RNase-Free ddH_2O 洗脱核酸。纯化的核酸可适用于各种常规操作，包括 PCR、荧光定量 PCR 和病毒检测等各种下游实验。

提取得率：

植物材料	提取量	平均 DNA 产量	OD_{260}/OD_{280}
小麦	100 mg	18-25 μg	1.7-1.9
松树	100 mg	25-30 μg	1.7-1.9
马铃薯	100 mg	4-6 μg	1.7-1.9
番茄	100 mg	10-15 μg	1.7-1.9
烟草	100 mg	10-15 μg	1.7-1.9
水稻	100 mg	10-25 μg	1.7-1.9
大豆	100 mg	10-25 μg	1.7-1.9
玉米	100 mg	20-30 μg	1.7-1.9
棉花	100 mg	10-25 μg	1.7-1.9

注意事项:

1. 操作前在 Buffer MLP1plus 中加入 β-巯基乙醇，如 1 ml Buffer MLP1plus 中加入 50 μl β-巯基乙醇。此裂解液最好现用现配，配好的 MLP1plus 4℃可放置一个月。
2. 由于 β-巯基乙醇具有毒性，MWE2 漂洗前需要在通风橱中进行。

一．手工操作步骤:

使用前请先在 Buffer MWE2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶子上标签。

1. 称取新鲜植物样品约 50-100 mg 或干燥样品约 15-30 mg，加入液氮充分碾磨。
2. 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有 500 µl Buffer MLP1plus（**使用前请先检查是否已加入 β-巯基乙醇**）和 5 µl RNase A（100 mg/ml）的离心管中，迅速颠倒混匀后，将离心管放在 70℃水浴 10 min，水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。
3. 13,000 rpm 离心 10 min，转移 300 µl 上清至新的离心管中。
4. 加入 600 µl Buffer MLT 和 15 µl FineMag Particles E，振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，共进行两次，短暂离心以去除管壁及管盖上液体。
5. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附时小心去除液体。
6. 将离心管从磁力架上取下，加入 900 µl Buffer MW，振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，短暂离心以去除管壁及管盖上液体。
7. 将离心管放置磁力架上静置 1 min，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
8. 将离心管从磁力架上取下，短暂离心后将离心管放置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附时小心去除液体。
9. 加入 900 µl Buffer MWE2（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，短暂离心以去除管壁及管盖上液体。
10. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
11. 加入 900 µl Buffer MWE2（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，短暂离心以去除管壁及管盖上液体。
12. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min，磁珠完全吸附后，小心吸去液体。
13. 将离心管从磁力架上取下，短暂离心后将离心管放置于磁力架上静置 1 min，待磁珠完全吸附时小心去除液体。
14. 将离心管于磁力架上，室温晾干 15 min。

    注意：乙醇残留会抑制后续的酶反应，所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间，以免难以洗脱 DNA。
15. 将离心管从磁力架上取下，加入 50-100 µl Buffer EB，振荡混匀 1 min，室温静置 2 min，共 2 次。短暂离心以去除管壁及管盖上液体。
16. 将离心管放置于磁力架上静置 2 min，磁珠完全吸附后，小心将 DNA 溶液转移至一个新离心管中，并于适当条件保存。

二．磁棒法自动化仪器提取步骤：

准备工作及注意事项：

1. 本产品在 Thermo KingFisher Flex 等自动化仪器上整合成功。
2. 植物样本的处理：同手工操作步骤 1-3，裂解完成后转移 300 µl 上清至含有 600 µl Buffer MLT 的 96 孔深孔板内。
3. 将含有植物样本上清液，Buffer MLT、900 µl Buffer MW、900 µl Buffer MWE2 和 50-100 µl Buffer EB 分别加到 96 孔板相应的位置上，将 15 µl FineMag Particles E 加入到 900 µl Buffer MW 中。

提取步骤：

1. 将处理好的植物样本上清液加入到含有 Buffer MLT 的 96 孔样品板里。
2. 将 96 孔板置于自动化提取仪中，室温孵育 5 min，期间中速和快速间隔拍打混匀。
3. 使用磁力套深入到含有磁珠的 Buffer MW 的孔中，快速拍打混匀 1 min，吹散磁珠。
4. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。
5. 将磁珠转移到含有植物样本上清液，Buffer MLT 的孔中，释放磁珠，中速和快速间隔拍打混匀 10 min。
6. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。
7. 将磁珠转移到含有 Buffer MW 的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀 3 min。
8. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。
9. 将磁珠转移到含有第一遍 Buffer MWE2 的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀 3 min。
10. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。
11. 将磁珠转移到含有第二遍 Buffer MWE2 的孔中，释放磁珠，快速拍打混匀 3 min。
12. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 20 sec。
13. 磁力棒吸附磁珠后悬空晾干 5 min。
14. 将磁珠转移到含有 Buffer EB 的孔中，75℃孵育，快速拍打混匀 10 min。
15. 磁力棒深入到磁力套中，吸附磁珠 3 次，每次 30 sec。
16. 将吸附的废弃磁珠转移到含有 Buffer MW 孔中，拍打混匀 1 min。
17. 程序结束后，小心将 DNA 溶液转移至收集板，并于适当条件保存。