一般实验室使用，仅用于*体外*

磁珠法96次植物基因组DNA提取试剂盒

（全自动核酸提取仪操作说明书）

用于快速提取植物基因组DNA

目录号：AU31111－96

使用手册

2015年5月，第1版

北京百泰克生物技术有限公司
BioTeke Corporation

地 址：北京海淀区留学人员创业园
电 话：010-62951781　　传真：010-62951781
网 址：www.bioteke.com　　Email:info@bioteke.com

北京百泰克生物技术有限公司
Bioteke Corporation

一、 试剂盒组成、储存、稳定性

	试剂盒组成	体积/孔
1	Buffer P1	550ul
2	Buffer P2	130ul
3	蛋白酶 K	20ul
4	RNnase A	6ul
5	磁珠	20ul
6	磁珠 CB	400ul 已封板
7	磁珠 CB	400ul 已封板
8	抑制物去除剂 IR	900ul 已封板
9	磁珠 IR	900ul 已封板
10	漂洗液 WB	900ul 已封板
11	洗脱液 EB	120ul 已封板

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

二、注意事项（实验前必须首先阅读这部分!）

1. Buffer P1、Buffer P2 低温时可能出现析出沉淀，可以在 65℃水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
3. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13，000 rpm的传统台式离心机，如Eppendorf 5415C 或者类似离心机。
4. **开始实验前将需要水浴的物品先预热到 65℃备用**。
5. 不同来源的植物组织材料中提取的DNA 的量会有差异，一般100mg新鲜组织典型产量可达3-25μg。
6. 试剂板请室温保存，禁止放到冷冻冰箱。
7. **本试剂盒中 6-11 号试剂已经分装在 96 孔深孔板中，蛋白酶 K 使用前可先短暂离心，加入 1ml 去离子水水充分溶解后使用。**

三、操作步骤

* **将 Buffer P1 放置在 65℃预热。**

1. 加热 Buffer P1 到 65℃。
2. 秤取适量植物组织于研钵中加入液氮充分研磨成细粉或用组织破碎仪破碎。
3. 转移细粉（植物新鲜组织 50mg 左右或干重组织 5-30 mg）到一个 1.5 mL 离心管，加入 550 uL 65℃预热 Buffer P1、20ul 蛋白酶 K 和 6 uL RNase A 剧烈涡旋震荡混匀，65℃ 水浴 25 分钟，期间要剧烈颠倒混匀 2-3 次。
4. 待温度冷却后，加入 130 uL Buffer P2，充分混匀，12000 rpm 离心 3 min，每个样品上清液平分到 CB1、CB2 相对应深孔板中（大概 400ul 左右），在 CB1 深孔板中每孔加入 20ul 磁珠。
5. CB1、CB2 深孔板中的每孔加入 360ul 乙醇。
6. 开机前将深孔板按照顺位平稳的放置到核酸自动提取仪中，缺口方向一致朝外，然后将搅拌套插入到卡槽中；
7. 开机后点击回归原点（注：深孔板放置好后，请不要随意转动转盘），进入程序编辑，程序名称设置好后，点击程序更新进入设置程序，具体如下表格，点击“温度设置”时，裂解温度设为 65℃，点击为“打开”状态，洗脱温度设为 65℃，点击为“打开”状态，洗脱时间设置为 12min，下载并保存，然后点击“运行”开始实验。

步骤	工位	等待时间（min）	混合时间（min）	混合速度	磁吸时间（s）	磁吸速度	容积
1	1	0	10	三	60	慢	800
2	2	0	10	三	60	慢	800
3	3	0	5	四	60	慢	900
4	4	0	4	四	60	慢	900
5	5	0	3	四	60	慢	900
6	6	2	10	四	60	慢	300
7	2	0	0	三	0	慢	200

8. 运行结束后关机，转移第 6 深孔板 DNA 至新的干净的离心管中，DNA 可以存放在 2-8℃,如果要长时间存放，可以放置在-20℃。