

BeyoMag™植物基因组DNA小量抽提试剂盒(磁珠法)

产品编号	产品名称	包装
D0047S	BeyoMag™植物基因组DNA小量抽提试剂盒(磁珠法)	50次
D0047M	BeyoMag™植物基因组DNA小量抽提试剂盒(磁珠法)	200次

产品简介:

- 碧云天生产的BeyoMag™植物基因组DNA小量抽提试剂盒(磁珠法), 即BeyoMag™ Plant Genomic DNA Purification Mini Kit with Magnetic Beads, 是一种基于磁珠法的高效便捷的植物基因组DNA抽提试剂盒。本试剂盒采用磁珠结合吸附的方式, 能够快速分离纯化提取植物基因组DNA, 无需使用有毒的苯酚-氯仿提取或耗时的酒精沉淀, 洗涤过程无需高速离心, 更安全、便捷、快速且节约时间, 适用于不同植物物种和组织类型如根、茎、叶、芽等样品。
- 本试剂盒的原理和操作流程如图1所示。植物样品在液氮研磨后与裂解液孵育, 或在裂解液中进行研磨, 然后离心取上清溶液, 加入适量无水乙醇混匀后与磁珠孵育, 释放出来的基因组DNA在特定条件下与磁珠特异性结合。在外界磁场(如磁分离架)的作用下, 磁珠与相应溶液可以快速高效地分离。随后通过两次洗涤去除各种杂质, 最后通过洗脱液将DNA从磁珠上洗脱下来[1-3]。整个过程无需酚氯仿抽提, 无需酒精沉淀, 样品裂解后仅需约15分钟即可完成。

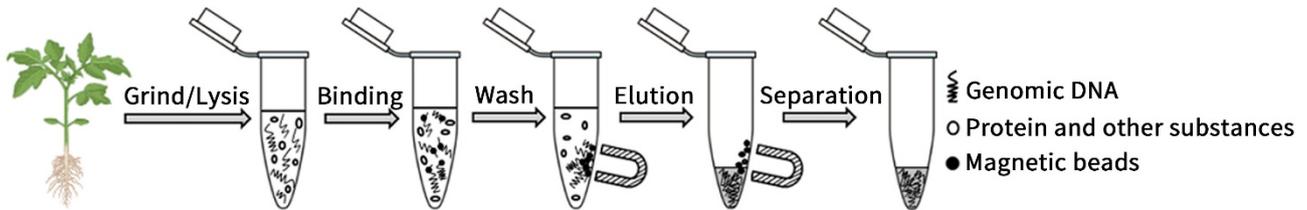
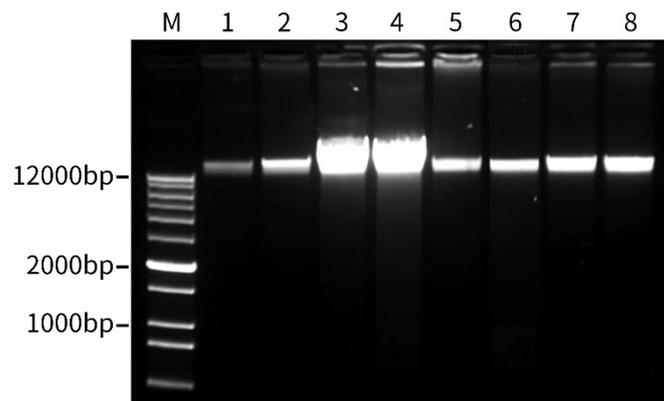


图1. BeyoMag™植物基因组DNA小量抽提试剂盒(磁珠法) (D0047)抽提DNA原理示意图。

- 通过本试剂盒纯化得到的植物基因组DNA的长度最长可达50kb左右, 平均为30kb左右, 最短为100bp的DNA也可以被纯化。
- 通过本试剂盒获得的植物基因组DNA, OD260/OD280的范围通常在1.6至1.9之间。
- 本试剂盒按照推荐的操作步骤, 可以从10-100mg植物样品中抽提获得约1-15μg的基因组DNA, 可以根据植物材料不同调整起始重量, 使用的样品过多反而会影响抽提效果。
- 使用本试剂盒提取不同物种植物叶片的基因组DNA效果请参考图2。



M: DNA Ladder

1/2: old/new leaves of *Arabidopsis thaliana*

3/4: old/new leaves of *Nicotiana benthamiana*

5/6: old/new leaves of *Epipremnum aureum*

7/8: old/new leaves of *Vigna radiata*

图2. 碧云天BeyoMag™植物基因组DNA小量抽提试剂盒(磁珠法) (D0047)提取不同植物新老叶片的基因组DNA效果图。采集100mg四种植物的新叶和老叶叶片加入液氮进行充分研磨后将样品恢复室温, 先后加入500μl裂解液A、2μl 100mg/ml RNase A和500μl裂解液B, 混匀后65°C水浴孵育裂解20分钟后室温离心取上清溶液, 加入200μl的无水乙醇混匀, 再加入60μl BeyoMag™磁珠悬液混匀并在室温孵育结合15分钟。使用磁分离架将磁珠与相应溶液分离, 然后分别使用洗涤液I和洗涤液II各洗1次, 室温晾干后加入100μl洗脱液洗脱样品, 最后进行1%琼脂糖凝胶电泳和荧光成像分析。电泳结果如图所示, 不同物种植物新老叶片

提取的基因组DNA的浓度和质量都较高。经过定量分析，100mg植物叶片样品最终纯化获得的基因组DNA含量分别约为：拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 老叶 4.5 μg/ 新叶 5.9 μg、烟草 (*Nicotiana benthamiana*) 老叶 14.4 μg/ 新叶 15.8 μg、绿萝 (*Epipremnum aureum*) 老叶 8.4 μg/ 新叶 8.4 μg、绿豆 (*Vigna radiata*) 老叶 10.5 μg/ 新叶 10.7 μg。M, DNA marker: DNA Ladder (0.2-12 kb, 12 bands) (D0110)。实际检测结果会因实验条件、检测仪器等的不同而存在差异，图中效果仅供参考。

- 对于多糖多酚含量较高的植物样品或希望获得高纯度的基因组DNA的植物样品，推荐使用碧云天的多糖多酚植物基因组DNA小量抽提试剂盒(离心柱式) (D0046)。
- 按照本试剂盒的标准操作步骤抽提得到的植物基因组DNA会含有少量的RNA，但如果按照可选步骤加入适量的DNase free的RNase A (ST576/ST577)，就可以获得不含RNA的高纯度总DNA。含有RNA的总DNA可以用于PCR，但对于某些其它的后续反应可能会产生一些影响。
- 本试剂盒中的BeyoMag™磁珠，每20μl磁珠悬液对于DNA的最大结合容量约为30μg。
- 本试剂盒小包装和中包装分别可以抽提50个和200个植物样品的基因组DNA。

包装清单：

产品编号	产品名称	包装
D0047S-1	BeyoMag™磁珠	1.1ml
D0047S-2	样品裂解液A	28ml
D0047S-3	样品裂解液B	28ml
D0047S-4	洗涤液I (首次使用前加入11ml无水乙醇)	33ml
D0047S-5	洗涤液II (首次使用前加入33ml无水乙醇)	22ml
D0047S-6	洗脱液	15ml
D0047S-7	蛋白酶K	1.1ml
—	说明书	1份

产品编号	产品名称	包装
D0047M-1	BeyoMag™磁珠	4.4ml
D0047M-2	样品裂解液A	110ml
D0047M-3	样品裂解液B	110ml
D0047M-4	洗涤液I (首次使用前加入44ml无水乙醇)	132ml
D0047M-5	洗涤液II (首次使用前加入132ml无水乙醇)	88ml
D0047M-6	洗脱液	60ml
D0047M-7	蛋白酶K	4.4ml
—	说明书	1份

保存条件：

蛋白酶K -20°C保存，其余均室温保存，一年有效。其中BeyoMag™磁珠长期不使用时，可以4°C保存，4°C可以保存更长时间。蛋白酶K室温(15-25°C)存放一周，活力无明显下降。

注意事项：

- 尽可能使用新鲜的植物样品，以确保提取获得完整的、质量较高的基因组DNA。
- 需自备磁分离装置，推荐使用碧云天的BeyoMag™磁分离架(FMS004/FMS008/FMS012/FMS016/FMS024)。配合使用水浴锅/金属浴仪、电动研磨仪/研钵、研磨棒、涡旋振荡器、高速离心机，请提前作好准备。
- 请小心使用液氮，防止被液氮冻伤。样品从液氮中取出时，应立即打开管盖防止温差造成的离心管炸裂，同时液氮研磨样品时需不断添加液氮。推荐使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)，以避免使用液氮。
- 如需制备不含RNA的高纯度基因组DNA，需自备DNase free的RNase A，推荐订购碧云天的RNase A (ST576/ST577)。
- 温度较低时样品裂解液A或样品裂解液B中可能会有沉淀产生，属正常现象。使用前必须检查一遍。如有沉淀，55°C水浴孵育使沉淀溶解，混匀后使用。
- **首次使用前洗涤液I需添加11ml/44ml无水乙醇，洗涤液II需添加33ml/132ml无水乙醇，混匀，并在瓶上做好标记。**
- 磁珠在静置后会发生沉降，使用前一定要适当涡旋震荡或颠倒数次至充分混匀。
- 磁分离前应适度震荡离心管使磁珠充分分散后再靠近磁场。如果出现磁珠挂壁现象，可以在磁珠聚集后晃动管内液体，使挂壁的磁珠流下。
- 请使用推荐的样品量。如果样品量过大，可能造成磁珠聚集，会影响洗涤进而影响抽提获得的DNA纯度。发生磁珠聚集时，洗涤时需尽量分散磁珠，这样可有效改善抽提效果。如果发生磁珠聚集现象，建议在后续实验中适当减少样品用量。
- 本试剂盒的某些步骤需使用55°C和65°C水浴，请提前作好准备。
- 除特别说明外，每次Vortex应控制在5-10秒左右。
- 本试剂盒所有操作均在室温进行，操作时无需冰浴。
- 请勿长时间干燥磁珠，干燥过度将导致磁珠不可逆的聚集，从而降低洗脱效率。

- 洗脱磁珠上的DNA时，可以将洗脱液加热至65°C，能够提高植物基因组DNA的洗脱效率。
- 洗涤液I和洗涤液II对人体有害或有刺激性，操作时请小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 蛋白酶K对人体有呼吸道、生殖等特定器官毒性，或致畸致癌毒性，操作时请特别小心，并注意有效防护以避免直接接触人体或吸入体内。
- 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。
- 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明：

1. 采集10-100mg的新鲜植物材料或20mg干重植物材料于1.5ml管中，加入液氮进行充分研磨。
注：请勿使用过多的样品，否则会导致抽提效果下降。新鲜或冻存的植物样品均可，对于水分较多或DNA含量低的植物材料可适当增加样本量。充分研磨是提取高质量DNA的关键，可提高裂解效果。研磨后的植物样品如果不立刻进行后续操作步骤，可在-80°C冻存，切勿反复冻融。
2. 加入500μl样品裂解液A，Vortex混匀。
注1：加入裂解液A前请确保研磨后的粉末恢复至室温，否则容易vortex不充分，造成裂解不完全。
注2：步骤1也可以不进行液氮冷冻和研磨，而是在加入500μl样品裂解液A后，使用适当的研磨或匀浆设备进行研磨或匀浆。推荐使用TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48) (E6618)。
3. 加入20μl蛋白酶K，Vortex混匀，55°C水浴孵育至完全裂解。
注：在孵育期间可以偶尔取出样品Vortex以加快裂解速度。裂解的时间因组织不同而有所不同，通常可在1-3小时内完成。
4. (选做)清除RNA，如果希望获得不含RNA的高纯度总DNA，加入2μl 100mg/ml RNase A，Vortex混匀。室温(15-25°C)放置2分钟。
注1：RNase A可根据抽提的量的多少调整用量。
注2：如果残余的少量RNA对后续实验没有干扰，可以不进行本步骤的实验操作，直接进行步骤5。
5. 加入500μl样品裂解液B，Vortex混匀。65°C孵育20分钟。
注：加入样品裂解液B后需立即Vortex混匀。孵育期间可以取出样品Vortex 1-2次，可加快裂解速度并确保沉淀不聚集在管底。
6. 将孵育后的植物样品溶液，室温8000×g离心10分钟。
7. 取离心后的上清溶液转移至新的1.5ml离心管中，加入200μl无水乙醇，Vortex混匀。
注：加入乙醇后必须充分混匀，否则会严重影响抽提效果。加入乙醇后可能产生白色沉淀，属正常现象，后续步骤中必须把白色沉淀和溶液全部用于和磁珠的结合，沉淀不会影响抽提效果。
8. 向步骤7中的混合物加入20μl BeyoMag™磁珠悬液(使用前务必混匀)，轻柔混匀后，室温放置3-5分钟。将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸除残液。
注：磁珠在使用前一定要涡旋或震荡混匀。如有必要，可适当增加磁珠用量，延长结合时间以提高得率。
9. 加入800μl洗涤液I (使用前请确认是否已加入无水乙醇)，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。
10. 加入1ml洗涤液II (使用前请确认是否已加入无水乙醇)，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒2次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。
11. 将离心管室温放置5-10分钟，或置于37°C鼓风烘箱5分钟，确保残留的乙醇等微量液体完全挥发。
12. 加入50-100μl洗脱液，轻柔震荡使磁珠悬于溶液中，65°C孵育3-5分钟，其间甩动离心管1-2次。将离心管置于磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸取溶液至新离心管中，置于-20°C保存。所得溶液即为纯化的总DNA。
注：如需获得更高浓度的样品，可把洗脱液的体积减小至50μl，但洗脱下来的DNA量会相对减少。此外，洗脱后的溶液再次加回到原磁珠再洗脱一次，可提高得率约10-30%；或者在第一次洗脱后使用新的洗脱液再洗脱一次，会获得约为第一次洗脱量15-40%的DNA。
13. 植物样品基因组DNA含量、质量和纯度的检测。
可通过1%琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计测量样品在OD260nm和OD280nm处的吸光值和OD260/OD280的比值。OD260数值为1时相当于大约50μg/ml的双链DNA、40μg/ml的单链DNA。如果使用去离子水进行洗脱，OD260/OD280比值会偏低，但不代表纯度低。

常见问题：

1. 为什么纯化获得的基因组DNA偏少？
 - a. 与植物材料样品有关，有些植物的DNA产量本身较低(例如拟南芥推荐起始量为200mg)，如样品较老、不新鲜、水分含量多和多糖多酚含量较高等。
 - b. 洗脱不充分，可适当增加洗脱体积或洗脱次数。或在65°C水浴中洗脱样品，可提高DNA洗脱效率。
 - c. 磁珠结合不充分，加入磁珠后应充分混匀，始终处于悬浮状态。
 - d. 磁珠残留乙醇，确保离心管开盖晾干至干燥，使残留在磁珠上的乙醇完全挥发。
 - e. 磁珠在洗涤步骤时造成了部分损失，可用少量洗涤液吹打管口，使粘在管口的磁珠吸附在离心管壁上。
 - f. 植物材料样品过多或植物样品研磨不充分，导致裂解不充分，此时可适当减少植物材料用量，并充分研磨。
 - g. 洗涤液中未加入无水乙醇。
 - h. 研磨不充分，基因组DNA抽提效率下降。

- i. 裂解液A中出现沉淀未溶解, 未能和样品充分裂解。
 - j. 孵育裂解时间过短或过长, 一般建议孵育时间不短于15分钟, 不超过60分钟。
2. 为什么基因组DNA纯度不高?
- a. 未加入RNase A, 可按使用说明的要求加入清除RNA的步骤。
 - b. 磁珠残留乙醇, 确保离心管开盖晾至干燥, 使残留在磁珠上的乙醇完全挥发。
 - c. 洗涤不充分。
3. 为什么DNA完全或部分降解?
- a. 植物取材不新鲜或反复冻融, 可以取新鲜植物样品, 低温保存来避免。
 - b. 环境中DNase污染。
 - c. 提取过程操作过于剧烈, 可以在裂解后的操作适当轻柔。
4. 为什么电泳的DNA条带拖带弥散或加样孔位置较亮?
- a. DNA上样量过多, 可以按照胶孔体积适当加入。
 - b. 有蛋白等杂质污染。
 - c. DNA完全或部分降解。
 - d. 电泳条件不对或需要更换使用新的电泳缓冲液。
 - e. 一些较大的基因组会堵在孔中, 较难发生电泳迁移, 造成孔内较亮。
 - f. 琼脂糖凝胶浓度较高会造成孔内较亮, 合适的凝胶浓度通常宜为0.8-1%。

参考文献:

1. Vogelstein B, Gillespie D. Proc Natl Acad Sci U S A. 1979. 76(2):615-9.
2. Boom R, Sol CJ, Salimans MM, Jansen CL, Wertheim-van Dillen PM, et al. J Clin Microbiol. 1990. 28(3):495-503.
3. Archer MJ, Lin B, Wang Z, Stenger DA. Anal Biochem. 2006. 355(2):285-97.

相关产品:

产品编号	产品名称	包装
D0045	植物基因组DNA小量抽提试剂盒(离心柱式)	50次/200次
D0046	多糖多酚植物基因组DNA小量抽提试剂盒(离心柱式)	50次/200次
D0047	BeyoMag™植物基因组DNA小量抽提试剂盒(磁珠法)	50次/200次
D0063	基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 离心柱式)	50次
D0088S	BeyoMag™基因组DNA小量抽提试剂盒(通用型, 磁珠法)	50次
D7292	BeyoPlant™植物基因型快速鉴定试剂盒	100次/500次
ST576	RNase A (10mg/ml, DNase free)	1ml
ST577	RNase A (100mg/ml, DNase free)	0.5ml
ST578	RNase A (10mg/ml)	1ml
ST579	RNase A (100mg/ml)	0.5ml
E1644	高通量组织研磨器(夹具行程32mm)	1台
E1643	高通量组织研磨器(夹具行程34mm)	1台
E6600	TissueMaster™手持式组织研磨仪	1套
E6606	TissueMaster™一次性塑料研磨杵	20pcs/100pcs
E6618	TissueMaster™高通量组织研磨仪(1.5/2ml×48)	1台
F6621	金属研磨珠(3mm)	500个/包装
F6623	金属研磨珠(5mm)	500个/包装
F6632	陶瓷研磨珠(3mm)	500个/包装
F6635	陶瓷研磨珠(5mm)	500个/包装
F6646-1bag	研磨仪专用离心管(加厚型, 2ml)	500个/包
FMS004	BeyoMag™磁分离架(4孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS008	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS016	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 蓝)	1个/盒
FMS009	BeyoMag™磁分离架(8孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS015	BeyoMag™磁分离架(16孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS025	BeyoMag™磁分离架(24孔, 1.5ml/2ml, 铝合金)	1个/盒
FMS012	BeyoMag™磁分离架(12孔)	1个/袋
FMS024	BeyoMag™磁分离架(24孔)	1个/袋