

Magnetic Bead-based Plasmid Kit

磁珠法质粒提取试剂盒

■ 目录号

TSN0401-200 (磁珠法质粒提取试剂盒)

TSN0401-032 (32 通道预装板磁珠法质粒提取试剂盒)

TSN0401-096 (96 通道预装板磁珠法质粒提取试剂盒)

■ 产品简介

本产品采用高结合力的超顺磁性纳米材料作为基质，配合改良 SDS 碱裂解法，可快速从菌体中提取高质量的质粒 DNA。适用于从 1-4 mL 细菌培养物中提取多至 20 μg 高纯度的质粒 DNA。提取的质粒 DNA 可直接用于 DNA 测序、体外转录与翻译、限制性内切酶消化、细菌转化等分子生物学实验。

■ 产品组成

| 组分 | 200 T | 保存条件及稳定性 |
|-------------------|--------|---------------|
| RNase A (10mg/mL) | 600 μL | -15~-25°C保存一年 |
| Buffer PA | 60 mL | |
| Buffer PB | 60 mL | |
| Buffer PC | 40 mL | |
| Buffer PWA | 120 mL | 15~25°C保存一年 |
| Buffer PWB | 250 mL | |
| Eluent | 25 mL | |
| 磁珠 | 4 mL | |

■ 保存条件

Buffer PA加入RNase A后置于 2~8 °C 保存，其他试剂常温(15-25°C)保存，保质期 1 年。

■ 注意事项

1. 第一次使用前，将 RNase A 全部加入至 Buffer PA 中，混合均匀后置于 2~8 °C 保存。

2. 环境温度低时，Buffer PB 中的 SDS 可能出现浑浊或析出沉淀，将其 37℃ 水浴加热几分钟即可恢复澄清，请勿剧烈摇晃，以免形成泡沫。
3. 磁珠长期静置后易出现沉降，使用前应震荡或涡旋 1 min 使其保持完全均一的悬浮状态。
4. 请勿直接接触 Buffer PB、Buffer PC、Buffer PWA，操作时请带好眼镜、乳胶手套和口罩，若沾染皮肤、眼睛应立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时及时就医。
5. 各溶液使用后请及时将盖子拧紧。
6. 实验前准备
设备：小型台式离心机、移液器、水浴锅或金属浴、涡旋振荡器、磁力架。

■ 手动提取操作步骤

1. 取 1-4 mL 过夜培养的菌液，12000 rpm (13400 × g) 离心 1 min，收集菌体，尽量吸除上清液。
2. 加 200 μL Buffer PA (请先检查是否已加入 RNase A) 重悬菌体沉淀，涡旋振荡至无明显菌块为止；
注：若菌体沉淀未彻底悬浮均匀会影响裂解效果，导致提取得率和纯度偏低。
3. 加 250 μL Buffer PB，温和地上下翻转 5~10 次，使菌体充分裂解，裂解时间 2 min；
注：此步需要温和翻转，不能剧烈震荡，以免打断基因组 DNA，使提取的质粒中含有基因组 DNA 片段。混合后菌体应变得清亮粘稠，若未变得清亮，可能是由于菌体量过多，裂解不充分导致，应减少菌体量。
4. 加 150 μL Buffer PC，温和地上下翻转 5~10 次，充分混匀，12000 rpm (13400 × g) 离心 10 min；
5. 小心吸取 400 μL 上清转入至新的离心管中，再加入 20 μL 磁珠，扣上离心管盖，涡旋混合均匀，室温静置 5 min，期间颠倒混匀 3~5 次；
6. 将离心管置于磁力架上磁吸 30s，磁吸完成之后，打开离心管盖，弃上清液；
7. 将离心管从磁力架上取下，加入 600 μL Buffer PWA 洗涤，高转速涡旋 10~30 s，再放置于磁力架上磁吸 30 s，弃上清；
8. 将离心管从磁力架上取下，加入 600 μL Buffer PWB 洗涤 (请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇)，高转速涡旋 10~30 s，再放置于磁力架上磁吸 30 s，弃上清；
9. 重复步骤 8 一次；
10. 室温静置 5 min 至管内残余乙醇挥发干净。
11. 离心管中加入 50 μL Eluent (Eluent 提前 65℃ 预热洗脱效果更好)，振荡混匀 5 min，放置于磁力架中磁吸 1 min，吸取上清至新的离心管，即获得纯的质粒 DNA。
注：洗脱体积越大，DNA 得率越高，如果需要得到较高浓度的 DNA，可以适当减少洗脱体积，但最少体积不应少于 25 μL，体积过小会降低 DNA 洗脱得率，降低产量。

32T Magnetic Bead-based Plasmid Kit

32 通道预装板磁珠法质粒提取试剂盒

■ 产品组成

| 组分 | 32 T | 保存条件及稳定性 |
|-------------------|----------------|--------------------------|
| RNase A (10mg/mL) | 80 μ L | -15~-25 $^{\circ}$ C保存一年 |
| Buffer PA | 8 mL | |
| Buffer PB | 10 mL | |
| Buffer PC | 6 mL | |
| Buffer PWA | 500 μ L/孔 | 15~25 $^{\circ}$ C保存一年 |
| Buffer PWB | 500 μ L/孔 | |
| Eluent | 70 μ L/孔 | |
| 磁珠 | 200 μ L/孔 | |
| 8 孔磁棒套 | 8 孔 \times 1 | / |

■ 产品应用

本产品适用于 16 通道深孔板质粒自动化纯化回收，一块预装板最多纯化 16 个质粒样本。可根据 16 通道、32 通道、48 通道自动化核酸提取仪进行适配。

■ 注意事项

实验前准备

设备：小型台式离心机、自动化核酸提取仪、移液器、涡旋振荡器。

■ 操作步骤

1. 取 1-4 mL 过夜培养的菌液，12000 rpm (13400 \times g) 离心 1 min，收集菌体，尽量吸除上清液。
2. 加 200 μ L Buffer PA (请先检查是否已加入 RNase A) 重悬菌体沉淀，涡旋振荡至无明显菌块为止；

注：若菌体沉淀未彻底悬浮均匀会影响裂解效果，导致提取得率和纯度偏低。

3. 加 250 μL Buffer PB, 温和地上下翻转 5~10 次, 使菌体充分裂解, 裂解时间 2 min;
注: 此步需要温和翻转, 不能剧烈震荡, 以免打断基因组 DNA, 使提取的质粒中含有基因组 DNA 片段。混合后菌体应变得清亮粘稠, 若未变得清亮, 可能是由于菌体量过多, 裂解不充分导致, 应减少菌体量。
4. 加 150 μL Buffer PC, 温和地上下翻转 5~10 次, 充分混匀, 12000 rpm (13400 \times g) 离心 10 min;
5. 用单通道移液器转移 400 μL 上清于预装板第 1 列和第 7 列中;
6. 将转移上清的预装板放入核酸提取仪中, 装好磁棒套, 运行“质粒纯化”程序;
7. 提取结束后, 将预装板中第 6
8. 列洗脱的质粒溶液转移, 并于适当条件保存。

质粒纯化程序

| 共 7 步 (16min) | 工位 | 名称 | 等待时间 (min:s) | 混合时间 (min:s) | 磁吸时间 (min:s) | 容积 (μL) | 混合 方式 | 温度 |
|------------------|----|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-------------------------|----------|------|
| 步骤 1 | 2 | 磁珠 | 0:00 | 0:30 | 0:30 | 400 | 快速 | — |
| 步骤 2 | 1 | 转移上清 | 0:00 | 5:00 | 0:30 | 400 | 快速 | — |
| 步骤 3 | 3 | Buffer PWA | 0:00 | 2:00 | 0:20 | 500 | 快速 | — |
| 步骤 4 | 4 | Buffer PWB | 0:00 | 1:00 | 0:20 | 500 | 快速 | — |
| 步骤 5 | 5 | Buffer PWB | 0:00 | 1:00 | 0:20 | 500 | 快速 | — |
| 步骤 6 | 6 | Eluent | 0:00 | 3:00 | 1:00 | 70 | 快速 | 70°C |
| 步骤 7 | 2 | 弃磁珠 | 0:00 | 0:30 | 0:00 | 400 | 快速 | — |

96T Magnetic Bead-based Plasmid Kit

96 通道预装板磁珠法质粒提取试剂盒

■ 产品组成

| 组分 | 96 T | 保存条件及稳定性 |
|-------------------|-----------------|--------------------------|
| RNase A (10mg/mL) | 240 μ L | -15~-25 $^{\circ}$ C保存一年 |
| Buffer PA | 24 mL | |
| Buffer PB | 30 mL | |
| Buffer PC | 18 mL | |
| Buffer PWA | 500 μ L/孔 | 15~25 $^{\circ}$ C保存一年 |
| Buffer PWB | 500 μ L/孔 | |
| Eluent | 70 μ L/孔 | |
| 磁珠 | 200 μ L/孔 | |
| 96 孔磁棒套 | 96 孔 \times 1 | / |

■ 产品应用

本产品适用于 96 通道深孔板质粒自动化纯化回收，一块预装板最多纯化 96 个质粒样本。可根据 96 通道自动化核酸提取仪进行适配。

■ 注意事项

1. 实验前准备
设备：小型台式离心机或板式离心机、自动化核酸提取仪、移液器、涡旋振荡器或 96 孔板混匀仪。
2. 可根据实际情况选择合适的集菌裂解方式，离心管集菌裂解或深孔板集菌裂解。

■ 操作步骤

离心管集菌裂解

1. 集菌步骤：向一个 1.5mL 或 2mL 离心管中每孔加入 1.0-1.5 mL 摇好的菌液，12000 rpm 离心 1 min 收集菌体，倒掉培养基(如果菌液浓度较低，可以重复集菌一次)；

2. 向收集好菌体的离心管中加入 200 μ L Buffer PA (请先检查是否已加入 RNaseA) , 盖好盖子, 使用漩涡混合器彻底悬浮菌体, 1000 rpm 混合 2 min;
3. 菌体悬浮后, 向每个离心管加入 250 μ L Buffer PB, 盖好盖子, 使用漩涡混合器彻底悬浮菌体, 400 rpm 混合 2 min; 或将离心管缓慢温和颠倒混匀 7-8 次后, 静置裂解 1 min; **注意: 温柔混匀以防有基因组 DNA 污染。混匀后菌液应变得清亮粘稠, 所用时间不应超过 5 min, 以免质粒受到破坏。**
4. 向每一个管子中加入 150 μ L Buffer PC, 盖上盖子, 使用漩涡混合器悬浮菌体, 800 rpm 混合 2 min; 或将离心管颠倒混匀 7-8 次; **注意: Buffer PC 加入后应立即混合, 避免产生局部沉淀。**
5. 裂解完成后, 将离心管放在离心机上, 12000 rpm 离心 10 min;
6. 用单通道移液器转移 400 μ L 上清于新的 2.2 mL 96 孔板中;

深孔板集菌裂解

1. 集菌步骤: 向一个新 2.2mL 96 孔深孔板中每孔加入 1.0-1.5 mL 摇好的菌液 (或者取摇好菌液的 96 孔板), 加盖封口膜, 4000 rpm 离心 2 min 收集菌体, 倒掉培养基, 倒扣于吸水纸上除去残留的培养基(如果菌液浓度较低, 可以重复集菌一次);
2. 向收集好的细菌培养物中加入 200 μ L Buffer PA (请先检查是否已加入 RNaseA) , 盖上封口膜, 使用 96 孔板混匀仪彻底悬浮菌体, 1000 rpm 混合 2 min;
3. 揭去封口膜, 向 96 孔深孔板中每孔加入 250 μ L Buffer PB, 盖上封口膜, 使用 96 孔板混匀仪彻底悬浮菌体, 400 rpm 混合 2 min; **注意: 温柔混匀以防有基因组 DNA 污染。混匀后菌液应变得清亮粘稠, 所用时间不应超过 5 min, 以免质粒受到破坏。**
4. 揭去封口膜, 向 96 孔深孔板中每孔加入 150 μ L Buffer PC, 盖上封口膜, 使用 96 孔板混匀仪彻底悬浮菌体, 800 rpm 混合 2 min; **注意: Buffer PC 加入后应立即混合, 避免产生局部沉淀。**
5. 裂解完成后, 取出深孔板放在天平上配平, 放在离心机上 4000 rpm 离心 15 min;
6. 用 8 道或 96 通道移液器转移 400 μ L 上清于新的 2.2 mL 96 孔板中;

质粒提取步骤

7. 将转移上清的深孔板放入核酸提取仪中, 装好磁棒套, 运行“质粒纯化”程序;
8. 提取结束后, 将 Eluent 预装板的质粒溶液转移, 并于适当条件保存。

质粒纯化程序

| 共 9 步 (16min) | 工位 | 名称 | 等待时间 (min:s) | 混合时间 (min:s) | 磁吸时间 (min:s) | 容积 (μ L) | 混合 方式 | 温度 |
|------------------|----|------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|----------|------|
| 步骤 1 | 2 | 装载磁棒套 | | | | | | |
| 步骤 2 | 2 | 磁珠 | 0:00 | 0:30 | 0:30 | 400 | 快速 | — |
| 步骤 3 | 1 | 转移上清 | 0:00 | 5:00 | 0:30 | 400 | 快速 | — |
| 步骤 4 | 3 | Buffer PWA | 0:00 | 2:00 | 0:20 | 500 | 快速 | — |
| 步骤 5 | 4 | Buffer PWB | 0:00 | 1:00 | 0:20 | 500 | 快速 | — |
| 步骤 6 | 5 | Buffer PWB | 0:00 | 1:00 | 0:20 | 500 | 快速 | — |
| 步骤 7 | 6 | Eluent | 0:00 | 3:00 | 1:00 | 70 | 快速 | 70°C |
| 步骤 8 | 2 | 弃磁珠 | 0:00 | 0:30 | 0:00 | 400 | 快速 | — |
| 步骤 9 | 2 | 卸载磁棒套 | | | | | | |

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：

product@tsingke.com.cn。

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。