

96T Magnetic Bead-based Endo-Free Plasmid Kit

96 通道预装板无内毒素磁珠法质粒提取试剂盒

■ 目录号

TSN0404-096

■ 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。并通过内毒素清除试剂去除质粒中的内毒素，质粒中内毒素含量可低于 0.1 EU/μg。适用于从 1~4 mL 细菌培养液中提取多至 20 μg 高纯度的质粒 DNA，可直接用于转染、转化、DNA 测序、PCR 和酶切等分子生物学实验。本产品配合核酸提取仪 50 min 内可一次完成 96 个质粒样本的提取。

■ 产品组成

组分	96 T	保存条件及稳定性
RNase A (10 mg/mL)	240 μL	-15~-25℃保存一年
Buffer PA	24 mL	
Buffer PB	30 mL	
Buffer PC	18 mL	
异丙醇	15 mL	
Buffer ERX	400 μL/孔	15~25℃保存一年
Buffer PWA	500 μL/孔	
Buffer PWB	500 μL/孔	
磁珠	500 μL/孔	
Eluent	70 μL/孔	
96 孔磁棒套	96 孔×1	/

■ 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。

■ 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 1.5 mL 或 2 mL 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 Buffer ERX 的 96 孔板中；

深孔板集菌裂解

1. 集菌步骤：向一个新 2.2 mL 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 Buffer ERX 的 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. 质粒提取程序运行“步骤 2”后会暂停，取出 Buffer ERX 深孔板，每个孔中加入 135 μ L 异丙醇，然后放入仪器中，继续运行“步骤 3”；
9. 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 11 步	工位	名称	等待时间 (min:s)	混合时间 (min:s)	是否 暂停	磁吸时间 (min:s)	容积 (μ L)	混合 方式	温度
步骤 1	1	装载磁棒套							
步骤 2	1	Buffer ERX		5:00	是		800		
步骤 3	4	磁珠	0:00	0:30	否	0:30	500	快速	—
步骤 4	1	Buffer ERX	0:00	5:00	否	0:30	950	快速	—
步骤 5	2	Buffer PWA	0:00	2:00	否	0:20	500		
步骤 6	3	Buffer PWA	0:00	2:00	否	0:20	500	快速	—
步骤 7	4	磁珠	0:00	1:00	否	0:20	500	快速	—
步骤 8	5	Buffer PWB	0:00	1:00	否	0:20	500	快速	—
步骤 9	6	Eluent	5:00	5:00	否	1:00	70	快速	70℃
步骤 10	4	磁珠	0:00	1:00	否	0:00	500	快速	—
步骤 11	1	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。