

质粒提取试剂盒

Plasmid Extraction Kit



产品货号: M7432S, M7432M

产品规格: 20 rxns, 100 rxns

储存条件: 2-35°C下有效期为 12 个月。到货后请将 RNase A 放置于 2-8°C或-20°C保存。

应用范围: 用于质粒的提取、富集、纯化等步骤

产品组分

组分	组分含量	
	M7432S	M7432M
A. 溶液 1 (Buffer L1)	5 mL 注:首次使用前加入 I (0.1 mL RNase A)	25 mL 注:首次使用前加入 I (0.5 mL RNase A)
B. 溶液 2 (Buffer L2)	5 mL	25 mL
C. 溶液 3 (Buffer L3)	7 mL	35 mL
D. 磁珠 1 (Beads 1)	0.2 mL	1 mL
E. 结合液 1 (Buffer B1)	3.5 mL	17.5 mL
F. 磁珠 2 (Beads 2)	3 mL	15 mL
G. 洗涤液 1 (Buffer W1)	6 mL 注:首次使用前加入 6 mL 异丙醇	30 mL 注:首次使用前加入 30 mL 异丙醇
H. 洗脱液 (BufferEB)	2 mL	10 mL
I. RNase A	0.1 mL	0.5 mL

产品介绍

本产品使用改进的 SDS 碱裂解法,采用双磁珠法提取,避免高速离心或真空抽滤,可分别实现杂质的快速吸附去除以及质粒 DNA 的特异结合。含有质粒的待分离样品经裂解后,利用磁珠与质粒特异性识别和高效结合,并利用磁性分离器或磁棒使磁珠吸附于管壁或磁棒套,通过洗涤、洗脱、纯化过程得到所需的 DNA。

适用仪器

本试剂盒适用于 Thermo KingFisher Flex24 等大体积自动化核酸提取仪,也适用于手动提取。

实验步骤

一. 首次使用前:

1. RNase A全部加入到溶液1 (Buffer L1),并于“□”内打上“√”,混匀后2~8°C保存,有效期6个月。



UElandy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com

2.在Buffer W1⑦中缓慢加入指定量的异丙醇（分析纯，需客户自备），并于“□”内打上“√”，混匀后2~35℃保存。

二. 手动操作流程

1. 客户自备物品

- (1) 异丙醇（分析纯）
- (2) 80%乙醇
- (3) 单通道移液器：20μL、200 μL、1000 μL
- (4) 恒温金属浴或水浴锅
- (5) 漩涡振荡器
- (6) 垂直混合仪
- (7) 2/15 mL磁性分离器、50 mL磁性分离器

2. 操作步骤

注意：不同样本体积及其它试剂加样量请参照表1要求！

1.手动提取（以1mL菌液提取为例）

1) 富集菌体

收集1mL已培养12~16 h的菌液（OD600=2-3）于2mL离心管，12000 rpm 离心1min，弃上清。加入250 μL Buffer L1（检查是否已加入RNase A），振荡至菌体彻底悬浮。

2) 裂解菌体

向离心管中加入250 μL Buffer L2，盖紧管盖，立即温和地上下颠倒混匀8-10次，室温放置2min使菌体裂解充分，此时悬液会变得相对粘稠。

*注意：温和的混匀，避免剧烈震荡导致基因组断裂

3) 去除基因组和蛋白

3.1 向离心管中加入350 μL Buffer L3，立即温和地上下颠倒8-10次，充分混匀，溶液出现白色絮状沉淀；

3.2 *将Beads 1悬液漩涡震荡30 s，使磁珠充分震荡重悬；向离心管中加入10 μL Beads 1，立即温和地上下颠倒混匀8-10次；

3.3 *然后将离心管放在磁力架上，磁吸2分钟使上清澄清，（若上清仍有浑浊，可再加入少量5-10μL Beads 1,上下颠倒混匀，再次磁吸）；

3.4 取出上清加到新的1.5mL离心管中。

*注意：如离心更方便，可将3.2-3.3步省去，改用12000rpm离心10-15min去除沉淀。

4) 结合质粒

4.1 向上述1.5mL离心管中，加入175μL Buffer B1、150μL异丙醇和150μLBeads 2，漩涡震荡10 s后，置于垂直混合仪上反应5min（或室温静置，每1分钟振荡混匀一次）；

4.2 然后将离心管放在磁力架上2min，用移液器移去上清液并取下离心管。

5) 洗涤

5.1 (可选步骤，若为endA+宿主菌，推荐此步) 加入600 μL Buffer W1（检查是否已加入异丙醇），以涡旋振荡器最大转速漩涡震荡至少1min，使磁珠充分重悬，再将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，移去上清液并取下离心管。

5.2 加入600 μL 80%乙醇，以涡旋振荡器最大转速漩涡震荡至少1 min，使磁珠充分重悬，将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，移去上清液并取下离心管。重复该步骤一次，共洗涤2次。



UElandy Inc.

Tel:0512-88965152

Web:www.uelandy.com

*注意：最后一步洗涤应尽量除尽洗涤液。

6) 干燥

保持离心管于磁性分离器上，于室温下静置5-10 min后，即磁珠表面无明显光泽，取下离心管。

*注意：干燥过程中若发现反应管中有液体残留时，可用小量程移液器吸弃液体。

7) 洗脱

加入100 μ L Buffer EB，涡旋震荡，或用移液器缓慢吹打磁珠，使磁珠充分重悬。然后于50°C条件下孵育5min。

将离心管置于磁性分离器上直至溶液澄清，转移上清液至新的1.5mL离心管中，此即为纯化得到的质粒DNA，可进行后续实验或保存于-20°C。

2. 自动化提取

可以适配市面上大部分品牌核酸提取仪，详细参数请联系我司技术支持或设备厂商技术支持。

表1. 手动操作不同样本体积及其它试剂加样量

加入试剂	1-5 mL	5-20 mL	20-50 mL
Buffer L1 (已加入 RNase A)	250 μ L	500 μ L	1 mL
Buffer L2	250 μ L	500 μ L	1 mL
Buffer L3	350 μ L	700 μ L	1.4 mL
Beads 1	10 μ L	20 μ L	40 μ L
Buffer B1	175 μ L	350 μ L	700 μ L
异丙醇	150 μ L	300 μ L	600 μ L
Beads 2	150 μ L	300 μ L	600 μ L
Buffer W1(可选)	600 μ L	1 mL	2 mL
80%乙醇	600 μ L	1 mL	2 mL
Buffer EB	100 μ L	500 μ L	1 mL

三. 自动化操作流程

可以适配市面上大部分品牌核酸提取仪，详细参数请联系我司技术支持或设备厂商技术支持。

注意事项

1. 操作之前，请务必认真阅读本产品手册。
2. 到货后请将 RNase A 放置于 2-8°C 或 -20°C 保存。首次使用前将 RNase A 全部加入到 Buffer L1 混匀，保存于 2-8°C，有效期为 6 个月。
3. Beads 1 和 Beads 2 的加入量与菌体量以及质粒拷贝数相关，可根据具体情况进行调整用量，磁珠取用前应充分重悬均匀。
4. 使用自动化仪器进行 Beads 1 和沉淀的去除时，如仪器磁性较弱导致磁珠残留，可适当增加 0.5-1 倍的 Beads 1 用量。Beads 1 过量可能会影响最终质粒得率。
5. 去基因组和蛋白步骤，也可不使用 Beads 1，改为 12000rpm 离心 10-15min。
6. 应避免对磁珠进行冷冻、离心等操作。
7. 磁珠干燥前，应使用移液器吸尽洗涤液。
8. 应避免磁珠过度干燥，否则会严重降低核酸洗脱效率。
9. 建议使用低吸附的离心管和移液器吸头，避免因粘附磁珠而造成损失。
10. 使用前请检查各组分是否存在析出情况，如有析出，请将试剂瓶置于 60°C 水浴加热溶解后使用。
11. 本产品仅供科研使用。

