

质粒提取试剂盒

Plasmid Extraction Kit



产品货号: MAG-P-50, MAG-P-250

产品规格: 50 rxns、250 rxns

运输条件: RNase A Soln. 0~8°C运输, 其它组分常温运输

保存条件: RNase A Soln. -20°C长期保存或 4°C短期保存, 并尽快使用完毕; 其它组分室温保存

应用范围: 用于质粒的提取、富集、纯化等步骤

产品组分

组分	MAG-P-50	MAG-P-250
MB Mix K ^{*1}	2.5 mL	12.5 mL
Lysis Blue ^{*2}	15 µL	75 µL
RNase A Soln. ^{*3}	60 µL	300 µL
Buffer P1	15 mL	75 mL
Buffer P2 ^{*4}	15 mL	75 mL
Buffer P3	7.5 mL	37.5 mL
Buffer DW1	25 mL	125 mL
Buffer EB	5 mL	25 mL

*注:

- 1) MB Mix K 取用前充分摇晃或震荡, 使磁珠悬浮均匀;
- 2) Lysis Blue 是特殊的颜色反应, 有利于监控碱裂解过程, 有助于减少操作时细胞裂解效率低下, SDS、细胞碎片和基因组沉淀不完全;
- 3) 实验前可以将 Buffer P1 与 RNase A Soln.提前混合, 放入 4°C冰箱待用, 有效期 1 个月;
- 4) Buffer P2 低温长期保存可能析出固体, 若析出固体请置于 45°C环境温热复溶, 确保溶液呈澄清状态。

产品介绍

试剂盒采用了磁性纳米颗粒固相核酸富集技术, 精选高性能纳米磁珠, 配合精心研制的Buffer体系组合而成。菌体经裂解后释放的DNA, 能够有效的结合于磁珠表面, 经清洗去除杂质后, 洗脱液中洗脱获得质量优良的质粒DNA产物, 整个操作过程简便、快捷。本试剂盒可在离心管中手动法操作, 也可配合核酸提取仪使用, 实现自动化操作。

产品特点

- 1) 基于磁珠法的操作流程, 简便、快捷;
- 2) 提取所得质粒 DNA 产物质量优良, 下游实验适用性强;
- 3) 可配合磁力架手动操作, 也可配合核酸提取仪实现自动化操作。



操作步骤

一. 首次使用前:

1. 自备试剂: 异丙醇 (AR)、80%乙醇溶液 (AR, 新鲜配置)
2. 根据实验样本数量, 计算并配置Buffer P1与RNase A Soln的混合溶液(1mL Buffer P1对应4 μ L RNase A Soln, 1000mL Buffer P1对应4mL RNase A Soln), 放入4°C冰箱待用, 有效期1个月。若使用周期超过1个月, 请分装部分Buffer P1加入RNase A Soln使用, 将剩余RNase A Soln至于-20°C长期储存;
3. 观察Buffer P2是否澄清, 如有固体絮状物析出, 置于45°C环境复溶解;
4. (可选) Lysis Blue 是特殊的颜色反应, 有利于监控碱裂解过程, 有助于减少操作时细胞裂解效率低下, SDS、细胞碎片和基因组沉淀不完全。Lysis Blue可预先添加到Buffer P1 中。由于Lysis Blue 不完全溶解于Buffer P1 中, 添加后, Buffer P1 会产生少量沉淀, 使用前要摇匀。按1mL Buffer P1 加入1 μ L Lysis Blue。

二. 样本前处理

1. 将菌液摇晃悬浮均匀, 分一次或多次, 向2mL离心管中转入1~5mL菌液, 高速离心2分钟 (12,000rpm, 室温) 沉淀菌体, 弃去上清液, 小心勿丢失菌体。
2. 向离心管中加入300 μ L Buffer P1/RNase A Soln 混合液, 高速涡旋振荡3分钟左右, 至菌体沉淀悬浮均匀。
注: 根据不同品牌离心机性能差异, 离心后菌体沉淀紧密程度亦会有差异, 如有必要可适当延长涡旋震荡时间, 使菌体充分悬浮均匀。
3. 向离心管中加入300 μ L Buffer P2, 轻柔混匀内容物裂解菌体, 内容物逐渐变为接近澄清状态, 约需2~3分钟 (勿裂解时间过长, 否则不利于下一步质粒复性)。
注: 若在Buffer P1中预先加入Lysis Blue, 则此步骤会变成淡蓝色, 以提供最佳的视觉识别。
4. 向离心管中加入150 μ L Buffer P3, 轻柔混匀内容物, 离心管中逐渐出现絮状沉淀, 将离心管离心10分钟 (12000rpm, 4°C), 小心将上清液 (~600 μ L) 转移至2mL离心管或96孔板中。
注: 若在Buffer P1中预先加入Lysis Blue, 则此步骤会变成无色, 以提供最佳的视觉识别。

三. 纯化步骤: 手动法

1. 在上述上清液的离心管中加入400 μ L异丙醇和50 μ L MB Mix K, 涡旋振荡5分钟, 将离心管置于磁力架上静置30秒。待磁珠完全吸附后, 用移液器吸弃管内液体。
2. 向离心管中加入500 μ L Buffer DW1, 1,000rpm涡旋振荡2分钟, 磁性分离, 吸弃上清液。
3. 加入700 μ L 80%乙醇, 1,000rpm涡旋振荡1分钟, 磁性分离, 吸弃上清液。
4. 重复上述步骤1次。
5. 将离心管继续保持在磁力架上, 放入45~50°C烘箱中, 干燥约10分钟至无明显乙醇气味 (也可室温晾干, 但需要更长时间)。
5. 挥发除醇结束后, 向离心管中加入50~100 μ L Buffer EB, 吹散或振散磁珠, 58°C振荡温浴5~10分钟。磁性分离, 将洗脱液转移至另一干净离心管中, 得DNA产物, 保存于-20°C。

四. 纯化步骤: 96位核酸提取仪

1. 将Sample Plate中加入~600 μ L上清液、400 μ L异丙醇和50 μ L MB Mix K。
注: 若进行高通量操作时, 可预先将异丙醇与MB Mix K混合, 并且在当天使用完毕。
2. 将96位磁棒套放入到Wash 2 Plate中 (必须准确放入, 否则可能损坏磁棒套。此步骤适用KingFisher Flex, 若使用其它品牌仪器请做相应调整)。



3. 将试剂板按对应顺序放入核酸提取仪中，运行程序。
4. 程序运行完毕，转移Elute Plate中DNA至新离心管中，提取过程结束。

试剂板	内容物	KingFisher Flex
Sample Plate	Lysate: ~600 μ L 异丙醇: 400 μ L MB Mix K: 50 μ L	/
Wash 1 Plate	Buffer DW1: 500 μ L	/
Wash 2 Plate	80%乙醇: 700 μ L	放入 96-Tip
Wash 3 Plate	80%乙醇: 700 μ L	/
Elute Plate	Buffer EB: 50~100 μ L	/

注：建议使用Buffer DW1 清洗2 次，可改善所得DNA 纯度

【96位核酸提取仪程序参数】

步骤	盘位	名称	等待时间 (sec)	混合时间 (sec)	磁吸时间 (sec)	容积(μ L)	混合速度	温度($^{\circ}$ C)
1	1	Binding	0	300	60	900	3	OFF
2	2	Wash 1	0	120	30	500	3	OFF
3	3	Wash 2	0	60	30	700	3	OFF
4	4	Wash 3	0	60	30	700	3	OFF
5	8	Elution	180	360	60	100	3	60
6	4	Beads Discarding	0	30	0	700	3	OFF

注：不同厂家核酸提取仪参数可根据实际情况进行调整。

