

磁珠法质粒DNA小量抽提试剂盒

MagBeads Plasmid DNA Mini Extraction Kit

【目录号】PDE-5005、PDE-5010、PDE-5030、PDE-5100

【运输条件】2~25℃；

【保存条件】组分①、③、④于4℃保存；组分⑦于-20℃保存；其它组分室温保存；

【试剂盒组成】

Kit Component 试剂盒组成	PDE-5005 (50T)	PDE-5010 (100T)	PDE-5030 (300T)	PDE-5100 (1000T)
① PDE-Buffer 1 菌体悬浮液	12mL	22mL	65mL	220mL
② PDE-Buffer 2 菌体裂解液	12mL	22mL	65mL	220mL
③ PDE-Buffer 3 质粒复性液	20mL	40mL	110mL	400mL
④ Magnetic Beads 磁珠悬浮液	3mL	6mL	16mL	55mL
⑤ Wash Buffer 清洗液	30mL	60mL	160mL	520mL
⑥ Elute Buffer 洗脱液	10mL	20mL	30mL	100mL
⑦ RNase A Solution RNase A 酶溶液	30μL	60μL	165μL	600μL

【注意事项】

1. 使用前将**RNase A溶液**（组分⑦）全部加入**菌体悬浮液**（组分①）中，4℃保存备用；
2. 使用前检查**菌体裂解液**（组分②）是否出现浑浊，如有请置于37℃水浴中温浴至澄清；
3. 实验前**质粒复性液**（组分③）需提前置于4℃冷却充分；
4. **菌体裂解液**（组分②）和**质粒复性液**（组分③）使用后需立即盖紧盖子；
5. **磁珠悬浮液**（组分④）严禁反复冻融，以免磁珠受到损害，使用前务必充分混匀；
6. **RNase A溶液**（组分⑦）长期不用于-20℃保存，融化后4℃保存，并尽快使用；
7. 质粒DNA抽提得量与细菌的培养浓度、宿主菌、质粒拷贝数等因素有关；
8. 本操作指南经公司反复验证，使用前请仔细阅读并按指南建议操作

【产品简介】

本试剂盒可应用于对小量菌液进行质粒DNA抽提。试剂盒采用高性能纳米磁珠和特殊缓冲液体系。磁珠表面修饰有特殊化学基团，在一定条件下对质粒DNA具有极强亲和力，当条件改变时可以可逆的释放质粒DNA，从而达到分离纯化质粒DNA的效果。整个操作过程简便、快速。本产品可最大限度的去除蛋白质等杂质，保证提取所得质粒DNA的纯度，所得质粒DNA产物可直接应用于酶切、测序、文库筛选、连接和转化等各种下游分子生物学实验。

本试剂盒可在EP管中进行手动法操作、在96孔圆孔板中进行手动法高通量操作（单人同时操作1~6块96孔板，可同步实现96~576份样本抽提工作）、或者与各种自动化核酸提取仪配合使用实现自动化高通量操作。

【试剂盒说明】

样本类型	样本量	核酸得量	单样本提取时间	6×96孔板提取时间
菌液	1.0~5.0mL	10~20μg	<40min	<60min

【自备仪器、耗材和试剂】

手动普通版：金属浴、涡旋混合仪、离心机、EP管、EP管用磁力架、80%乙醇。

手动高通量版：涡旋混合仪、吸水纸、烘箱或电风扇、水浴锅、96孔圆孔板（孔体积2.2mL）、96孔圆孔板专用磁力架、96孔板离心机、48孔尖底板（孔体积4mL）、48孔板用硅胶垫（或PCR板封板膜）、80%乙醇。

仪器自动版：英芮诚ETP-400核酸提取仪、涡旋混合仪、离心机、EP管、96孔圆孔板、80%乙醇。

【手动普通版操作步骤】

1. 菌体收集

将适量菌液(1.0~5.0mL)转移至EP管中，室温、12,000rpm离心2min，吸弃上清液。

2. 菌体悬浮

向EP管中加入200μL菌体悬浮液，震荡将菌体沉淀彻底悬浮。

3. 菌体裂解

向EP管中加入200μL菌体裂解液，上下轻柔颠倒EP管约2min使菌体充分裂解，裂解液应变为基本澄清。

注：如菌液量较大，可延长裂解时间至约4min，但不宜超过4min，否则质粒难以复性。

4. 质粒复性

向EP管中加入350 μ L质粒复性液（已4 $^{\circ}$ C冷却充分），上下轻柔颠倒EP管使质粒复性，复性良好的内容物呈现絮状物。将EP管于4 $^{\circ}$ C、12,000rpm离心10min，将上清液转移至新的EP管中。

5. 核酸结合

将磁珠悬浮液摇匀，向转入上清液的EP管中加入50 μ L磁珠液，充分涡旋振荡5min，使磁珠与溶液充分混匀。

6. 磁性分离

将EP管置于磁力架上静置约20s至磁珠吸附完全。如EP管内盖有磁珠残渣，保持EP管于磁力架上，整体颠倒两次使磁珠吸附完全，然后彻底吸弃上清液，避免接触磁珠。

7. 清洗

1) 向EP管中加入500 μ L清洗液，从磁力架上取下，上下用力摇动3~5次或使用移液器吹打使磁珠分散均匀，然后涡旋震荡1min，参考步骤6进行磁性分离，弃去上清液。

2) 使用500 μ L 80%乙醇，参照步骤7(1)操作2次。

注：该步骤DNA量过多时可能引起磁珠团聚，但不影响最终DNA得量及质量。

8. 除醇

保持EP管于磁力架上，置于55 $^{\circ}$ C烘箱中干燥除醇8min。

注：如没有烘箱，可将EP管置于通风橱通风或电风扇直接吹10min。

9. 核酸洗脱

取出EP管，加入50~100 μ L洗脱液，用移液器吹打3min（或1,000rpm涡旋振荡3min）使磁珠与洗脱液充分混匀。

注：该步骤操作完毕后，将EP管放入金属浴中继续温浴5min，再次1,000rpm涡旋振荡3min，可进一步提高核酸得量，特别是针对分子量较大的质粒。

10. 核酸转移

将EP管置于磁力架上静置20s至磁珠吸附完全，将洗脱液转移至另一干净EP管中得DNA产物，抽提过程完毕。

【手动高通量版操作步骤】

本方法首先在48孔板中完成摇菌、收菌、重悬、裂解和复性步骤，然后转入96孔板完成后续操作步骤。

1. 菌体收集

菌液提前在48孔板中培养过夜，将48孔板于4,000rpm离心5min，确保沉淀紧附于48

孔板底。小心直接倒扣48孔板弃去上清液，呈倒扣状置于干净吸水纸上吸尽残液。

2. 菌体悬浮

向样本孔中分别加入200 μ L菌体悬浮液，涡旋震荡1~2min将菌体彻底悬浮。

3. 菌体裂解

向样本孔中分别加入200 μ L菌体裂解液，将48孔板于400~500rpm温和涡旋震荡1min使菌体裂解充分，裂解液应变为基本澄清，然后静置1min。

注：如菌液量较大，可延长裂解时间至约4min，但勿超过4min，否则造成下一步质粒复性困难。

4. 质粒复性

向48孔板样本孔中分别加入350 μ L质粒复性液（已提前4 $^{\circ}$ C冷却充分）。将48孔板于700rpm温和涡旋震荡1min使质粒复性，复性良好的内容物呈现絮状物。将48孔板4,000rpm离心15min，板孔底部形成密实白色沉淀。

注：此步骤离心操作务必在板孔底部形成密实白色沉淀，否则应继续延长离心时间5~10min。

5. 核酸结合

分别转移600 μ L质粒复性上清液至96孔板中，向样本孔中分别加入50 μ L摇晃均匀的磁珠悬浮液，将96孔板用封板膜封好，于1,200rpm涡旋震荡5min，磁珠需分散均匀。

6. 磁性分离

将96孔板置于专用磁力架上约20s至磁珠吸附完全。如板孔内壁有磁珠残液，保持96孔板于磁力架上，倾斜96孔板使上清液冲洗磁珠将磁珠吸附完全。然后小心迅速倒扣孔板弃去上清液，继续呈倒扣状置于干净吸水纸上吸尽残液。

7. 清洗

1) 向96孔板样本孔中分别加入500 μ L清洗液，1,200rpm涡旋振荡1min，参考步骤6进行磁性分离，弃尽上清液。

2) 使用500 μ L 80%乙醇，参照步骤7(1)操作2次。

8. 除醇

保持96孔板在磁力架上，置于55 $^{\circ}$ C烘箱中干燥除醇8min。

注：如无烘箱，可将96孔板置于通风橱通风或电风扇直接吹10min。

9. 核酸洗脱

取出96孔板，向样本孔中分别加入50~100 μ L洗脱液，1,200rpm涡旋振荡3min，使磁珠与洗脱液充分混匀。

注：该步骤操作完毕后，将96孔板放入65 $^{\circ}$ C水浴锅中继续温浴5min，再次1,200rpm涡旋振荡3min，可进一步提高核酸得量，特别是针对分子量较大的质粒。

10. 核酸转移

将96孔板置于磁力架上静置约20s至磁珠吸附完全，用移液器将洗脱液转移至干净EP管或者PCR板中，抽提过程完毕，此时可弃去磁珠（亦可使用本公司96孔板配套磁力爪，直接将磁珠从96孔板中移除，将洗脱液留在96孔板中）。

【仪器自动提取操作步骤】

本方法以英芮诚ETP-400型全自动核酸提取仪为例，在96孔圆孔板中进行操作，同步可完成48份样本的质粒DNA抽提工作。

1. 准备96孔板

参照下表用量向96孔板相应孔位中加入对应试剂：

样本孔位	1、5、9	2、6、10	3、7、11	4、8、12
试剂	磁珠悬浮液 50 μ L	清洗液 600 μ L	80%乙醇 600 μ L	洗脱液 50~100 μ L

注：1) 每次吸取磁珠悬浮液前需摇晃均匀；2) 为提高效率建议使用排枪；3) 试剂加板完毕请尽快使用，防止醇挥发导致结果波动。

2. 菌体收集、悬浮、裂解、复性

参考【手动普通版操作步骤】或者【手动高通量版操作步骤】完成菌体收集、菌体悬浮、菌体裂解和质粒复性操作。转移600 μ L质粒复性上清液至96孔板第1/5/9列孔位。

3. 上机提取

将96孔板放入ETP-400型核酸提取仪中，插入磁棒套，打开仪器操作软件，选择“质粒DNA提取”程序，点击“运行”。

“质粒DNA提取”程序各参数设置如下，如机器和说明书不一致，请以说明书为准：

步骤编号	孔位	运行类型	振荡时间(秒)	分离时间(秒)	挥发时间(秒)	振荡幅度	振荡强度	一组温度(°C)	二组温度(°C)	三组温度(°C)	四组温度(°C)	五组温度(°C)	六组温度(°C)
1	1	结合	300	5	0	4	强	0	0	0	0	0	0
2	2	清洗1	100	2	0	5	强	0	0	0	0	0	0
3	3	清洗2	60	2	300	5	强	0	0	0	0	0	0
4	4	洗脱	350	2	0	2	强	45	45	45	45	45	45
5	2	弃磁珠	15	0	0	5	强	0	0	0	0	0	0

4. 核酸转移

程序运行完毕，取下96孔板，将洗脱液转移至干净的EP管，提取过程完毕。

附录1:

ETP-300 | 自动核酸提取仪

-----具有卓越性能的磁棒法自动化核酸纯化系统

【仪器简介】

ETP-300 系列自动核酸提取仪是基于纳米磁珠分选技术，集富集、清洗、洗脱于一体，且全过程能自动化控制的一种仪器。其可以从全血、病毒、组织、植物、细菌和培养细胞等样本中自动纯化核酸。凭借预先录入的程序，该仪器可为每个忙碌的实验室提供一个高稳定性、高效率的自动化核酸纯化解决方案。



【仪器型号】

ETP-300: 适用 96 孔板，单个处理体积为：20~1000 μ L，可轻松实现 1~32 个样本处理。

【仪器参数】

孔位中混合强度	强、中和弱，共 3 档
孔位中振动幅度	1-5，共 5 档
磁珠释放	磁棒释放磁珠的高度位置可以选择，最大程度杜绝磁珠的挂壁现象
提取孔间差	CV< 3%
磁珠回收率	>98%
加热温度	8 个独立模块，可以程序自动选择裂解加热与洗脱加热，室温至 75 $^{\circ}$ C（样本板中的实际温度，非加热模块的表观温度）
操作界面	window 8 系统，彩色液晶+触控操作
内部程序	可新建、编辑、删除模式程序，且可存储大于 100 组程序
程序设定	操作步骤可设置为 2-12 步，孔位间可以自由选择移动，满足了所有磁珠法试剂盒的磁棒移动需求
使用电源	AC110~240V 50Hz/60Hz 1000VA
操作湿度范围	低于 80%
紫外消毒	内置紫外灯，可进行消毒处理

【仪器应用】

本仪器可用于植物组织、动物组织、全血、细菌、质粒、病毒、血清游离、法医检材、海洋生物、中草药和真菌等各种样本的核酸提取，亦可应用于各种药物筛选、小分子、大分子以及蛋白纯化等过程。

【卓越的优势】

1、高灵活性

◇ 磁棒/磁套的混合强度和振度幅度可自由选择

混合强度和振动幅度的可调使得溶液混匀和清洗等更加合适，完美满足要求；

◇ 独有的 20 秒微振技术

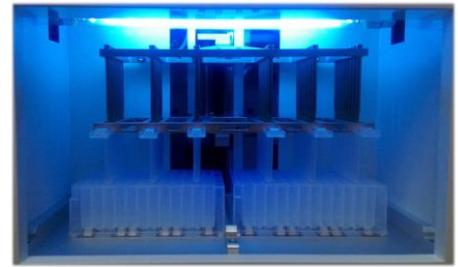
在磁珠吸附过程中配有独特的提前 20 秒 2mm 微震模式，使得磁珠更加容易聚集到磁棒的底端，杜绝磁珠上跑现象，使提取率>98%，结果更加稳定；

◇ 唯一的磁珠释放高度可调技术

磁棒释放磁珠的高度位置可以选择，最大程度杜绝磁珠的挂壁现象；

◇ 创新的多步骤程序设定技术，样本的操作具有极高的自由度

操作步骤可设置为 2-12 步，孔位间可以自由选择移动，可以满足 cfDNA 提取、片段 DNA 筛选、双磁珠法等所有磁珠法试剂盒的磁棒移动需求。



2、独一无二的 8 道独立控温技术

◇ 采用独一无二的 8 道独立控温技术

每个通道的温控均可在室温-75℃间自由选择。

◇ 唯一实现同一样本位不同温度裂解需求

结合多步骤程序设定技术，唯一实现在同一个样本位先后采用不同的加热温度，完美实现组织样本的不同温度深度裂解需求。



3、程序提醒功能

自动化程序操作结束，即有美妙的音乐提醒。

附录 2:

英芮诚·磁珠法（部分）试剂盒一览

1. 高通量 PCR 产物回收试剂盒；
2. 高通量胶 DNA 回收试剂盒；
3. 质粒 DNA 抽提试剂盒；
4. 唾液基因组 DNA 提取试剂盒；
5. 拭子基因组 DNA 提取试剂盒；
6. 血斑基因组 DNA 提取试剂盒；
7. 血液基因组 DNA 提取试剂盒；
8. 病毒 DNA 提取试剂盒；
9. 细菌基因组 DNA 提取试剂盒；
10. 高通量 PCR 产物回收试剂盒；
11. 高通量 PCR 产物部分回收试剂盒（100bp 以下被去除）；
12. 土壤基因组 DNA 提取试剂盒；
13. 游离 DNA 提取试剂盒；
14. 酵母质粒 DNA 抽提试剂盒；
15. 大分子量质粒 DNA 提取试剂盒。

更多磁珠法核酸提取试剂盒欢迎前往 www.bio-enriching.com 了解。

版权声明：© 英芮诚生化科技（上海）有限公司保留本使用指南的所有权利。版本：V201811.291

英芮诚生化科技（上海）有限公司

地址：上海市杨浦区国权北路 1688 号湾谷科技园 A8 座 303 室

电话：021-55809378

网址：www.bio-enriching.com

电子邮件：marketing@bio-enriching.com