

# 质粒DNA小量快速提取试剂盒 (磁珠法)

(使用说明书 Ver.1.1.1.1)

## 产品说明

- ◇ 独有的显色反应，可以直接观察到细胞裂解或中和的程度，极大方便操作者判断实验状态。
- ◇ 高效、高通量、快速、方便，可配合简石便携式提取仪（如下图），极大的节约时间，程序稳定，不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀。获得的质粒产量高、纯度好。
- ◇ 内毒素含量低 ( $\leq 1\text{EU}/\mu\text{g}$ )，且质粒纯度优异，可以直接用于酶切、转化、PCR、体外转录、测序、转染、体内细胞等各种敏感分子生物学实验。
- ◇ 此产品仅供科研使用。

产品货号：

TB427 -32 (32次反应)    TB427 -96 (96次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

# 目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	2
溶液制备	2
操作步骤	2
◇ 前处理操作步骤	2
◇ 质粒DNA纯化步骤	3
组件查询	4

## 产品组份

试剂盒组成	32次	96次	保存
RNase A溶液	0.6ml	0.6ml*2	4°C
P1 (红色)	12 ml	30ml	4°C
P2	12 ml	30ml	室温
P3	20ml	55ml	室温
质粒DNA洗涤液1	25ml	65ml	室温
质粒 DNA 洗涤液 2 (未添加乙醇)	15 ml	2x20ml	室温
	第一次使用前按说明加指定量乙醇		
质粒DNA洗脱液	5ml	10ml	室温
96孔深孔板V底2.2ml	3块	7块	室温
96孔过滤纯化板	2块	2块	室温
96孔封板膜	10张	20张	室温
磁珠	2ml	2x2ml	室温

## 注意事项

- ✧ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ✧ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ✧ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或pH值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。
- ✧ 环境温度低时溶液P2中SDS可能会析出沉淀，可在37°C水浴加热几分钟，即可恢复澄清，不要剧烈摇晃，以免形成过量的泡沫。
- ✧ 提取质粒的量与细菌培养的浓度、质粒拷贝数等因素有关。
- ✧ 过高的菌液量参与提取，不一定能带来更高的产量，反而会导致菌液裂解不充分，影响质粒DNA的纯度与浓度。
- ✧ 合适菌的细胞量关乎整个提取流程的稳定性，建议监测菌液OD值 $\leq 5$ (**具体菌液使用量与OD值之间的比例，请参照附图1**)，内毒素含量可低至 ( $\leq 1\text{EU}/\mu\text{g}$ )。

## 产品特性

- ✧ DNA纯度：获得的质粒产量高、纯度好，可以直接用于酶切、转化、PCR、体外转录、测序、转染等各种分子生物学实验。一般情况Abs260/280 $\geq$ 1.8，Abs260/230 $\geq$ 2.0，内毒素含量 $\leq$ 1EU/ $\mu$ g。
- ✧ 质粒DNA产量：每次可提取到约50~100 $\mu$ g，主要依据质粒的拷贝数，培养物成长环境等因素。
- ✧ 质粒DNA大小：最高可达20kb。（片段长度不同与菌种相关）
- ✧ 洗脱体积： $\geq$ 50  $\mu$ l。
- ✧ 操作温度：室温(15-30°C)。

## 溶液制备（使用之前需要）

- ✧ 第一次使用，将试剂盒中RNase A加入溶液P1（终浓度 $\geq$ 200 $\mu$ g/ml，将全部 RNase A加到P1当中）置于2-8°C保存。
- ✧ 如果溶液P1中RNase A失活，提取的质粒可能会有微量RNA残留，在溶液P1中补加RNase A即可。
- ✧ 试用装的P1已添加过RNaseA。
- ✧ 32次\96次反应的质粒DNA洗涤液2，应添加60ml\80ml无水乙醇到15ml\20ml的质粒DNA洗涤液2中，加入后请及时在方框内打钩标记，以免多次加入！

## 操作步骤：

### ✧ 前处理操作步骤：

1. 推荐 $\leq$ 4000 $\times$ g条件下离心2min反复离心去除上清，获得5-10ml菌液沉淀，然后将深孔板倒扣在吸水纸上，以尽可能去除培养基。
2. 对应有菌体的孔内，加入300 $\mu$ l溶液P1，可选择封口膜封住96孔深孔板，置于涡旋振荡器上振荡，重悬菌体沉淀，也可用吸头反复吹打至彻底悬浮。（如果有未彻底混匀的菌块，会影响裂解，导致提取产量和纯度偏低。）
3. 对应有菌体的孔内，加入300 $\mu$ l溶液P2，新的封口膜封住96孔深孔板，温和地上下翻转数次使菌体充分裂解，液相粘稠透亮为最佳，室温反应时间 $\leq$ 5 min。（不要剧烈振荡！所用时间不应超过5分钟！以免质粒受到破坏。此时菌液应变得清亮粘稠，如果菌体少，很快清亮粘稠后就可以做下一步。如果液相过于浑浊不透亮，证明菌量过多，超过P2裂解能力。）
4. 对应有菌体的孔内，加入300 $\mu$ l溶液P3，新的封口膜封住96孔深孔板，立即温和地上下翻转数次，中和完全后会出现黄色絮状沉淀。（中和完全后溶液呈现黄色，应是稀松絮状物，无粘稠抱团液相。）
5. 将上述中和的絮状沉淀 $\leq$ 4000 $\times$ g的条件下离心5min，保留上清，备用。

#### ◇ 质粒DNA纯化步骤：

请注意，上述备用上清转移时对应的32次\96次的孔位是否准确。

将96孔**过滤板**与新的96孔**深孔板**叠加在一起，将上述步骤5中的~800 $\mu$ l上清转移至96孔过滤板相应的孔内，放入吊篮式离心机内， $\leq 4000\times g$ 条件下，离心2min，收集过滤的上清液到96孔深孔板内。（请注意：**离心后上清所在的位置为：32次规格的板中第1、7列，96次规格的板中第1板位**）

#### 手动提取步骤：

1. 将上一步所得96孔**深孔板**内上清  $\leq 1000\mu$ l 转移到 1.5ml离心管/板中。
2. 振荡混匀的磁珠取30 $\mu$ l 添加到上述离心管中，用枪头混匀或者放在振荡器上振荡 5 分钟。
3. 将 1.5ml离心管/板放到磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 1.5ml离心管/板从磁力架上移走。
4. 添加 600 $\mu$ l 的质粒 DNA 洗涤液 1 到 1.5ml离心管/板中混匀 5 分钟。
5. 将 1.5ml离心管/板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 1.5ml离心管/板从磁力架上移走。
6. 添加 800 $\mu$ l 的质粒 DNA 洗涤液 2 到 1.5ml离心管/板中混匀 5 分钟。
7. 将 1.5ml离心管/板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 1.5ml离心管/板从磁力架上移走。
8. 添加 800 $\mu$ l 的质粒 DNA 洗涤液 2 到 1.5ml离心管/板中混匀 5 分钟。
9. 将 1.5ml离心管/板转移到一个磁力架上，直到磁珠沉淀下来，吸弃上清液。将 1.5ml离心管/板从磁力架上移走。
10. 将 1.5ml离心管/板在室温下放置 5-10 分钟自然晾干。（避免过度干燥影响磁珠的洗脱效率）
11. 添加 50-100 $\mu$ l 的质粒 DNA 洗脱液到离心管中并且重悬磁珠，混匀磁珠 5-10 分钟，然后将 1.5ml离心管/板移到一个磁力架上，放置 2-3 分钟直到磁珠完全沉淀下来。
12. 将上清（包含质粒DNA）转到一个干净的 1.5ml离心管/板内。

## 组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
RNase A溶液	TE1008-0.6	0.6ml	4℃
P1 (红色)	TD4200-1-12	12ml	4℃
	TD4200-1-30	30ml	
P2	TD4200-2-12	12ml	室温
	TD4200-2-30	30ml	
P3	TD4200-3-20-N	20ml	室温
	TD4200-3-55-N	55ml	
质粒DNA洗涤液1	TD4200-9-25	25ml	室温
	TD4200-9-65	65ml	
质粒DNA洗涤液2 (未添加乙醇)	TD4200-10-15	15ml	室温
	TD4200-10-20	20ml	
质粒DNA洗脱液	TD4200-7-5	5ml	室温
	TD4200-7-10	10ml	
96 孔深孔板 V 底 2.2ml	TC2018-3	3块	室温
	TC2018-7	7块	
96 孔过滤纯化板	TC2022-32	2块	室温
	TC2022-96	2块	
96 孔封板膜	TC2007-10	10张	室温
	TC2007-20	20张	
磁珠	TD4100-2-2	2ml	室温