

质粒DNA小量快速提取试剂盒

(预分装磁珠法)

(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-kf (32次反应) TB427 -96-kf (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	6

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℃
P1（红色）	12 ml	30ml	4℃
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℃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 ≤ 5 (**具体菌液使用量与OD值之间的比列，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 $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ ， $A_{260}/A_{230} \geq 2.0$ ，内毒素含量 $\leq 1\text{EU}/\mu\text{g}$ 。
- ✧ 质粒DNA产量：每次可提取到约50~100 μg ，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： $\geq 50\ \mu\text{l}$ 。
- ✧ 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 $\geq 200\mu\text{g}/\text{ml}$ ，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 μl 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 μl 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 $\leq 5\ \text{min}$ 。（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 μl 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~800μl上清转移至96孔过滤板相应的孔内，放入吊篮式离心机内，≤4000×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**）

以下为96孔板试剂布局，及相应32次\ 96次规格的自动化设备程序设定。请按照相应位置添加试剂，试剂量为理论值，当样本的输入量有变化，相应的试剂体积为变量，客户可根据自身要求做出相应的调整，并进行实验条件的摸索。

自动化程序为通用程序，客户可根据科研实验需求，对程序进行调整，以达到最佳效果。

TB427-32 -kf (32次反应) 96孔板试剂分布：

推荐使用我公司BrightBOT-16-32(16 或 32通道核酸提取仪)

注意：第1、7列为样品上清添加的位置

	1、7列	2、8列	3、9列	4、10列	5、11列	6、12列
A	上清加入位置 (≤1000μl)	质粒DNA 洗 涤1 600μl (磁珠30μl)	质粒DNA 洗涤2 800μl	质粒DNA 洗 涤2 800μl	质粒DNA洗 脱液 ≥50μl	空 (废弃)
B						
C						
D						
E						
F						
G						
H						

程序设置 TB427-32 -kf (32次反应)：

裂解加热：关		裂解温度：-		裂解终止：-	
洗脱加热：开		洗脱温度：65℃		洗脱开始：孔位5 、11	
	步骤一	步骤二	步骤三	步骤四	步骤五
名称	Transfer	Lysis	Wash I	Wash II	Wash III
孔位	2、8	1、7	2、8	3、9	4、10
等待时间	-	-	-	-	-
混合时间	120s	900s	120s	120s	120s

磁吸时间	120s	120s	120s	120s	120s
容积	600μl	≤1000μl	600μl	800μl	800μl
速度	快	快	快	快	快

洗脱加热：关	裂解温度： -	裂解终止： -
洗脱加热：开	洗脱温度： 65℃	洗脱开始： 孔位5、11
	步骤六	步骤七
名称	Elution	Discard
孔位	5、11	4、10
等待时间	300s	-
混合时间	300s	120s
磁吸时间	120s	0s
容积	≥50μl	800μl
速度	快	快

TB427-96 -kf (96次反应) 96孔板试剂分布：

推荐使用我公司BrightBOT-96(96通道核酸提取仪)

注意：第1板为样品上清添加的位置

	第一板	第二板	第三板	第四板	第五板
A	上清加入位置 (≤1000μl)	质粒DNA洗涤1 600μl (磁珠30μl)	质粒DNA洗涤2 800μl	质粒DNA洗涤2 800μl	质粒DNA 洗脱液 ≥50μl
B					
C					
D					
E					
F					
G					
H					

程序设置TB427-96 -kf (96次反应):

裂解加热: 关		裂解温度: -		裂解终止: -	
洗脱加热: 开		洗脱温度: 65°C		洗脱开始: 第五板	
	步骤一	步骤二	步骤三	步骤四	步骤五
名称	Transfer	Lysis	Wash I	Wash II	Wash III
板位	2	1	2	3	4
等待时间	-	-	-	-	-
混合时间	120s	900s	120s	120s	120s
磁吸时间	120s	120s	120s	120s	120s
容积	600μl	≤1000μl	600μl	800μl	800μl
速度	快	快	快	快	快

洗脱加热: 关		裂解温度: -		裂解终止: -	
洗脱加热: 开		洗脱温度: 65°C		洗脱开始: 孔位5、11	
		步骤六		步骤七	
名称		Elution		Discard	
板位		5		4	
等待时间		300s		-	
混合时间		300s		120s	
磁吸时间		120s		0s	
容积		≥50μl		800μl	
速度		快		快	

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