

磁珠一步法质粒 DNA 提取试剂盒说明书

产品组成

磁珠一步法质粒 DNA 提取试剂盒 Cat. No.	16 次制备 M101016	100 次制备 M101100
磁珠	720 μ l	4.5 ml
裂解酶	54 mg	330 mg
裂解酶溶解液	270 μ l	1.65 ml
Buffer I	1 ml	10 ml
Buffer FL	11 ml	66 ml
Buffer WP	12 ml	70 ml
Buffer FW2	13 ml	80 ml
Buffer FW3	15 ml	90 ml
Buffer E	1.6 ml	10 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存

- 裂解酶和裂解酶溶解液可室温运输，收到产品后请置于 2-8°C 贮存。其他试剂与物品如果储存于常温（0~30°C），可在两年内保持使用性能无明显变化。
- 裂解酶溶解后，需置于 2~8°C 保存，可稳定保存 4 个月。加入裂解酶后的 Buffer FL 请置于 2~8°C 保存，在 2 个月内使用不影响裂解效果。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn, 电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒采用新型的一步法酶裂解技术，可从 1-5 ml 过夜培养菌液中快速提取到高质量的质粒 DNA。独特的缓冲液配方将传统碱裂解法中的菌体重悬、裂解及中和三个步骤合并为一步，只需用 Buffer I 悬浮细菌后加入到分装好试剂的 96 深孔板中，即可由仪器自动完成质粒 DNA 的分离与纯化，非常适合大批量质粒 DNA 的同步提取纯化。获得的质粒可直接用于酶切、PCR、测序、转化等分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

- 96 深孔板（2.2 ml），如果用户需要预分装好试剂的 96 深孔板及磁棒套，请与技术支持联系
- 纯水、移液器及吸头
- 一次性手套及防护用品和纸巾
- 磁珠法核酸自动化提取仪

使用前准备

使用前将裂解酶溶解液加入裂解酶中，漩涡震荡直至全部溶解，然后将裂解酶溶液全部转移到 Buffer FL 中，并在标签的方框中打勾做好“裂解酶已加”的标记，将 Buffer FL 置于 2~8°C 保存（注意冰箱 2-8°C 储藏室在冬季可能会出现低于 0°C 的情况，从而导致 Buffer FL 产生沉淀物。因此冬季可将已加入裂解酶的 Buffer FL 室温存放，使用前再放入 2-8°C 预冷。）加入裂解酶后的 Buffer FL 在 2~8°C 储存 2 个月后其裂解菌体的性能可能会降低，需要重新补加裂解酶后才能正常使用；也可按每 1 毫升 Buffer FL 加入 25 微升裂解酶溶液的比例混合 Buffer FL 和裂解酶现配现用，以获得最佳的菌体裂解效果。

操作步骤

1. 按步骤 A~G 在 96 深孔板中预分装试剂：

- A. 在 96 深孔板第 1 列和第 7 列每孔加入 600 μ l 已加入裂解酶的 Buffer FL；
- B. 用力摇晃装有磁珠的保存管，使缓冲液中的磁珠颗粒充分悬浮，先在 96 深孔板第 2 列和第 8 列每孔加入 40 μ l 磁珠后，再加入 260 μ l 去离子纯水；
- C. 在 96 深孔板第 3 列和第 9 列每孔加入 650 μ l Buffer WP；
- D. 在 96 深孔板第 4 列和第 10 列每孔加入 700 μ l Buffer FW2；
- E. 在 96 深孔板第 5 列和第 11 列每孔加入 800 μ l Buffer FW3；
- F. 在 96 深孔板第 6 列和第 12 列每孔加入 80 μ l Buffer E；
- G. 将分装好试剂的 96 深孔板封口后在 2~8 $^{\circ}$ C 预冷。

注意：Buffer FL 必须经过预冷后使用，否则会导致质粒 DNA 的提取效率降低！

2. 收集 1~5 ml 细菌培养物中的菌体，加入 50 μ l Buffer I，旋涡振荡彻底悬浮菌体。

- * 低速长时间离心收集的细菌更容易悬浮。如果菌体难以选悬浮，可在加完 Buffer I 后室温静置 20~30 分钟再悬浮菌体。必须充分悬浮菌体，加入未悬浮的菌体是导致质粒 DNA 回收率最低的最主要原因。
- * 不要使用超过 5 ml（LB 培养基的细菌用量，2 \times YT 等培养基的细菌用量减半）的细菌培养物提取质粒 DNA，否则可能会超过裂解酶的溶菌能力，导致质粒 DNA 提取效率降低。
- * 必须收集新鲜培养的细菌提取质粒 DNA，不可使用冷冻储存的细菌提取质粒 DNA。冷冻储存的细菌解冻后会含大量已溶菌的菌体，严重干扰裂解酶的作用，导致质粒 DNA 释放不充分。

3. 开启核酸自动化提取仪，按下图步骤设置好程序。

步骤	孔位	液量 (uL)	浸泡 (秒)	搅拌强度 (级)	搅拌时间 (秒)	下降吸磁 (秒)	液底吸磁 (秒)	吸磁次数 (次)	等待时间 (秒)	暂停 关/开	板1裂解 ($^{\circ}$ C)	板1洗脱 ($^{\circ}$ C)	板2裂解 ($^{\circ}$ C)	板2洗脱 ($^{\circ}$ C)
1~99	1~6	20~1200	0~255	1~6	0~9999	5~600	0~255	0~255	0~9999	0/1	0~125	0~125	0~125	0~125
1	1	650	0	1	180	5	3	0	0	0	40	0	40	0
2	2	300	0	6	3	5	0	1	0	0	0	0	0	0
3	1	650	0	1	180	30	3	2	0	0	0	0	0	0
4	3	650	0	3	120	30	3	2	0	0	0	0	0	0
5	4	700	0	4	120	30	3	1	0	0	0	0	0	0
6	5	800	0	4	120	30	3	1	600	0	0	0	0	0
7	6	80	0	4	180	30	3	1	0	0	0	30	0	30
8	1	650	0	6	5	5	3	0	0	0	0	0	0	0

- * 上述程序是根据本公司的核酸自动提取仪（Cat. No. Sim-300）设计，如果用于其他公司仪器，请根据仪器特点适当调整程序中的各个参数，或者拨打 400-0099-857 电话获取技术支持。

4. 取出预冷好的 96 深孔板，在第 1 列和第 7 列各孔中依次加入悬浮的菌体，将 96 深孔板放入核酸自动化提取仪中，插入磁棒套，稍用力推到底，安装到位后有轻微的“咔哒”声，点击“运行”。

- * 加入菌体后应立即启动质粒 DNA 提取步骤，否则 Buffer FL 恢复到室温后会影质粒 DNA 的提取效率。

5. 仪器运行结束后，取出 96 深孔板，收集转移第 6 列和第 12 列中的质粒 DNA 到洁净的离心管中；或直接用封口膜封住 96 深孔板，储存到 -20 $^{\circ}$ C 备用。