

Sup-081601 高通量质粒提取试剂盒（磁珠法）

产品编号	规格
Sup-081601	100T/盒

提取得率

质粒类型	菌液量	得率
低拷贝	1-5ml	3ug
高拷贝	1-5ml	20ug

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的纳米磁珠和独特的缓冲液系统，适合于从1-5ml培养过夜的大肠杆菌（DH5α，JM109等）菌液中抽提DNA高达20ug。所采用的纳米磁珠能够高效、专一吸附DNA，提取的质粒DNA适用于如PCR、酶切、转化、测序等常规实验操作。

一、试剂盒组成、储存条件

试剂盒组成	保存	100 次	颜色
溶液 P1	4℃	25ml	红色
溶液 P2	室温	25ml	紫色
溶液 P3	室温	35ml	黄色
漂洗液 WB	室温	30ml	无色
洗脱液 EB	室温	15ml	无色
RNaseA (10mg/ml)	-20℃	250µl	无色
磁珠 (50mg/ml)	室温	2ml	棕色
说明书	室温	1 份	\

本试剂盒室温下保存 12 个月不影响使用效果。低温条件下保存时，若溶液 P2 产生沉淀，请先将溶液 P2 室温 (20-30℃) 条件下放置一段时间，必要时可放 37℃ 水浴中温浴 10 min，以溶解沉淀。

二、实验前准备

1. 涡旋振荡器、掌心离心机、核酸提取仪、磁力套、96 孔板
2. 需要试剂 80% 无水乙醇、异丙醇
3. 使用前，请把 RNaseA 全部加入到溶液 P1 中，混匀后再使用，4℃ 保存。
4. 使用前，请按下表准确加入 98-100% 的乙醇到漂洗液 WB。

Sup-081601	
漂洗液 WB	30ml
乙醇	120ml

三、操作步骤

3.1 收菌

1. 取 1-4ml 过夜培养的菌液，室温下 13,000×g 离心 1min 收集菌体，尽量移除上清。菌液较多时，可以通过多次离心收集菌体。
2. 加入 250 µl 溶液 P1 (含 RNaseA) **【红色液体变得浑浊】**，涡旋振荡使菌体沉淀彻底悬浮。

3.2 裂解

3. 加入 250µl 溶液 P2 **【液体慢慢变得透亮粘稠紫色液体】**，温和地上下翻转 4-7 次，

使菌体充分裂解，室温下静置1min，裂解时间不要超过3min，此时菌液应变的清亮粘稠。

注意：此操作避免剧烈混匀，否则容易导致基因组DNA污染。裂解时间不宜超过3min，以免质粒受到破坏。如果溶液未变的清亮，则可能是由于菌体过多，裂解不彻底，应减少菌体总量，或相应增加溶液P1、P2、P3的量。

3.3 中和

- 加入350μl溶液P3，立即上下翻转7-10次【紫色液体逐渐变成黄色，并有大量沉淀产生，待紫色液体完全消失，说明中和完全】，充分混匀，此时会有白色絮状沉淀出现。
- 室温下， $\geq 13,000\times g$ 离心2 min，此时在离心管底部形成白色沉淀。

3.4 质粒提取、纯化

3.4.1 96孔自动提取仪操作方案：

1. 试剂分装

质粒DNA提取试剂分装表												
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
		WB/磁珠	WB	80%乙醇	80%乙醇	洗脱液		WB/磁珠	WB	80%乙醇	80%乙醇	洗脱液
A		500/20	500	500	500	100		500/20	500	500	500	100
B		500/20	500	500	500	100		500/20	500	500	500	100
C		500/20	500	500	500	100		500/20	500	500	500	100
D		500/20	500	500	500	100		500/20	500	500	500	100
E		500/20	500	500	500	100		500/20	500	500	500	100
F		500/20	500	500	500	100		500/20	500	500	500	100
G		500/20	500	500	500	100		500/20	500	500	500	100
H		500/20	500	500	500	100		500/20	500	500	500	100

2. 接步骤 3.3 中和 后，转移上清液 800μl 到 96 孔板的孔 1、7 中，同时补加 100μl 异丙醇。

3. 放入核酸提取仪器中，插好磁力套，运行程序 pla-DNA。程序步骤如下表：

步骤	孔位	步骤说明	等待时间 (Min:Sec)	混合时间 (Min:Sec)	吸磁时间 Sec	容积 ul	混合速度	加热设置	温度
1	2	转移	0:00	0:10	60	500	快	关闭	
2	1	结合	0:00	5:00	90	900	慢	关闭	
3	2	洗液B	0:00	0:30	45	500	慢	关闭	
4	3	洗液B	0:00	0:30	45	500	慢	关闭	
5	4	80%乙醇	0:00	0:30	45	500	慢	关闭	
6	5	80%乙醇	0:00	0:30	45	500	慢	关闭	
7	6	洗脱	2:00	2:00	90	100	慢	开启	90℃
8	1	弃磁珠	0:00	0:10	0	900	快	关闭	

4. 程序运行 10min 左右，程序运行完毕，转移孔 6、12 的 DNA 至新的无 RNase、DNase 离心管中，并保存-20℃或进入下一步实验。