Ver: 2012

无内毒素质粒小提试剂盒（磁珠法）

（BW-MPD1220）

目录

产品组成 2
产品简介 2
保存条件 2
实验前准备工作 3
实验前需准备的材料 3
安全信息 3
实验步骤 3
32A 自动化提取 SOP 6
96A 自动化提取 SOP 8
购买须知 10
附录 11

浙江省杭州市余杭区余杭塘路 2636 号风尚智慧谷 1 幢 101 室
电话：0571-56391588； 400-115-2855
http://www.beiwobiomedical.com/

产品组成

Catalog#	BW-MPD1220-A00-00	BW-MPD1220-A00-01	BW-MPD1220-A00-02
Preps	50	250	1000
Plasmid-L Beads	2 x 900 µL	8.8 mL	35.5 mL
Buffer A1	15 mL	65 mL	255 mL
Buffer B1	15 mL	65 mL	255 mL
Buffer N3	5 mL	20 mL	80 mL
Buffer KB	30 mL	130 mL	500 mL
Buffer RET	15 mL	65 mL	255 mL
DNA Wash Buffer*	15 mL	2 x 40 mL	3 x 100 mL
RNase A (20 mg/mL)	120 µL	520 µL	2 x1.1 mL
EndoFree Elution Buffer	10 mL	50 mL	200 mL
User Manual	1	1	1

*DNA Wash Buffer：使用前请将 60 mL (BW-MPD1220-A00-00)或 160 mL (BW-MPD1220-A00-01)或 400 mL (BW-MPD1220-A00-02) 96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。

产品简介

该试剂盒是采用磁珠与质粒 DNA 的可逆性吸附系统，允许 DNA 和磁珠高效结合，而蛋白质和其他污染物在一定条件下被清除。核酸很容易用无菌水或洗脱缓冲液洗脱。

无内毒素（EZgene™ EndoFree）系统使用一种特殊配方的缓冲液，从细菌裂解液中清除内毒素。经纯化后的质粒内毒素水平<15 EU/µg 内毒素。纯化后的无内毒素 DNA 可用于各种下游应用，如内毒素敏感细胞系的转染、原代培养细胞或微注射。

本试剂盒用于快速高效提取< 5 mL 菌液的质粒 DNA，最高产量可达到 30 µg。本产品可匹配多种自动化核酸提取仪，如 Allsheng Auto-Pure 96A。

保存条件

本试剂盒自生产之日起可保存 12 个月。RNase A 可储存于室温（15-25℃），长期储存于 4℃。Plasmid-L Beads 可常温运输，于 4℃保存。其余试剂及用品可保存于室温（15-25℃）。

实验前准备工作

通过检查本用户手册，准备好所有组件和所有必要的材料，熟悉每一步，并特别注意以下几点。

- RNase A：20 mg/mL，使用前需将提供的所有 RNase A 瞬时离心。实验前可将 RNase A 加入 Buffer A1 中混匀后使用，并于 4℃保存。
- Buffer B1：低于室温时会沉淀，请于 37℃水浴加热至沉淀完全溶解，溶液澄清。使用后保证 Buffer B1 瓶盖拧紧。
- Plasmid-L Beads：使用前需充分涡旋混匀。建议根据自身使用情况进行分装，避免反复开盖和涡旋降低磁珠磁性，磁珠碎片增加。
- DNA Wash Buffer：使用前请加入瓶身相应的 96-100%乙醇至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。
- 若收集管不适合高速离心机转子，或无高速离心机，可以进行低速离心后，再用过滤器过滤来收集裂解上清液。
- 在室温下（15-25℃）进行所有离心操作。

实验前需准备的材料

- 96-100%乙醇
- 水浴锅（65℃）
- 高速离心机
- 磁力架或自动化仪器
- 1.5 mL 高速离心管

安全信息

Buffer N3和Buffer KB中含有离液盐，与漂白剂结合可能形成活性化合物。不要直接向废料中添加漂白剂或酸性溶液。

实验步骤

1. 接种新鲜的菌液到 1 -5 mL LB 培养基（含适量抗生素），37℃震荡培养 14-16 h。

   注：制备初始培养菌液的最佳方法：从新鲜的选择性培养基上挑取新鲜的单菌落至含有适量抗生素的 LB 培养基内，37℃，震荡（约 250 rpm）培养 6-8 h。OD600 介于 2.0-3.0。

   注：请勿使用保存在 4℃的菌液作为初始菌液。请勿使用过量菌液。

2. 5,000 rpm 离心 10 min，弃上清，将管子倒置于纸巾上，去除残留培养基（尽量除干净）。

   注：残留培养基会导致细胞裂解不良，从而降低 DNA 产量。

3. 加入 **250 μL Buffer A1**（确保其中已加入 RNase A），用移液器或涡旋震荡仪充分悬浮细菌细胞。

   注：充分重悬对于获得最佳产量是至关重要的。

4. 加入 **250 μL Buffer B1**，必须轻轻地反转 5-10 次以混匀（不要涡旋），室温静置 5 min 以内，裂解液整体表现为澄清。

   注：孵育时间不能超过 5min。Buffer B1 若产生沉淀，须在 37℃加热，使沉淀溶解后再使用。

5. 加入 **75 μL Buffer N3**，立即手动震荡 5-10 次混匀，产生白色沉淀。

   注：一定要混合均匀，若混合物仍然呈团块、褐色、粘稠状，需要更充分混匀来完全中和。

6. 将裂解液移入高速离心管，室温 12000 rpm 离心 10 min。

   注：若沉淀离心不完全，可以再离心 5min；若没有高速离心机，可低速离心（5000 rpm 左右）后取相对澄清的上清液。

7. 取步骤 6 中的上清液转移至一个干净的 1.5 mL 离心管中（避免吸到沉淀），加入 **250 μL Buffer RET** 和 200 μL 无水乙醇，混匀得到裂解液混合液。

8. 加入 **35 μL Plasmid-L Beads**，涡旋混匀 1 min 左右。混匀后室温静置 5-10 min，期间需手动或涡旋混匀 1-2 次，之后上磁力架静置 1 min 左右（确保所有磁珠被吸附即可），弃去上清液，保留磁珠。

   注：Plasmid-L Beads 使用前需充分涡旋混匀。孵育期间一直混匀有助于提高得率。

   注：提取 5 mL 左右菌液时，可适当增加磁珠量至 40 ul，其余试剂不变，可适当增加产量。

9. 从磁力架上取下离心管，加入 **500 μL Buffer KB**，涡旋混匀 1 min，之后上磁力架静置 1 min（确保所有磁珠被吸附即可），弃去上清液，保留磁珠。

10. 从磁力架上取下离心管，加入 **600 μL DNA Wash Buffer**（确保加入 96-100%乙醇），涡旋混匀 1 min，之后上磁力架静置 1 min（确保所有磁珠被吸附即可），弃去上清液，保留磁珠。**重复此步骤**。

    注：DNA Wash Buffer 使用前请加入瓶身相应的 96-100%乙醇。

11. 在磁力架上晾干 5-10 min。除残留乙醇，以便获得最佳洗脱。

    注：要注意观察磁珠是否过于干燥，过于干燥会影响洗脱效果。

12. 从磁力架上取下离心管，加入 **100-200 μL Endofree Elution Buffer**（65℃水浴锅预热）或者细胞培养水，涡旋混匀 1 min，孵育 5 min（可于室温或 65℃孵育），期间混匀 1-2 次再上磁力架，静置 2 min 左右（确保所有磁珠被吸附即可），吸取澄清的液体（产物）至无菌离心管中，检测后于-20℃或-80℃保存。

    注：小体积（50 μL）洗脱可能会洗脱不完全，得率有所降低。如有必要可进行二次洗脱，提高

DNA 产量，或者直接 100 μL 洗脱。

如需购买预装版试剂盒以及自动化平台匹配，请拨打联系电话：400-115-2855。

32A 自动化提取 SOP

适配 Allsheng Auto-Pure 32A

1. 取 1-5 mL 菌液，按照前面的**步骤 3-6** 进行操作得到裂解液上清液。

2. 取 96 孔深孔板，按照下表 1 加入样本和试剂至板中。若为非预装版试剂盒，以下试剂都需自行加入。

注：每一孔的总体积不能超过 1000 μL，否则可能溢出。

表 1. 96 孔板设置

孔板每列名称	对应仪器板位	样本/试剂	体积(μL)	预分装版试剂盒说明	瓶装试剂说明
Banding	1/7 列	预处理上清液	500	需用户自行加入（先加）	尽量取澄清的裂解液，然后依次加入 RET 和酒精得到混合液。
		100%酒精	200	需用户自行加入	
		Buffer RET	250	已分装	
Beads	2/8 列	Plasmid-L Beads	35	已分装，无需用户自行加入	注：Beads 在使用前需涡旋混匀 1 min，充分混匀磁珠，以确保加入各孔无差异
		磁珠保存液(或 ddH_2O)	65	已分装，无需用户自行加入	
Wash 1	3/9 列	Buffer KB	500	已分装，无需用户自行加入	/
Wash 2	4/10 列	DNA Wash Buffer	600	已分装，无需用户自行加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
Wash 3	5/11 列	DNA Wash Buffer	600	已分装，无需用户自行加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
Elution	6/12 列	Endofree Elution Bufferr	100	已分装，无需用户自行加入	洗脱体积可根据具体要求调整。至少加入 60 μL 进行洗脱。

3. 启动仪器，在仪器中放置好新的洁净磁棒套，并将装有样品和试剂的 96 孔板安放至仪器中对应的板位上。

4. 执行程序请参考表 2。（该程序设定仅供参考）

5. 待程序完成后收集产物：取出 96 孔板，吸取 Elute 板（6/12 列）内的提取产物至无菌离心管中，检测后于-20℃或-80℃保存。

表 2. 提取程序

步骤	名称	孔位	混合时间(min)	吸磁时间(s)	等待时间(min)	容积(μL)	混合速度(1-10)	温度(℃)	混合位置(0-100%)	混合幅度(1-100%)	吸磁位置(0-100%)	吸磁速度(1-10)
1	Mix	1	0.2	-	-	900	5	OFF		80		

2	Beads	2	0	10	0	100	-	OFF	0	80	0	1
3	Banding	1	5	60	0	900	4	OFF	0	80	0	1
4	Wash1	3	1	30	0	500	7	OFF	0	80	0	1
5	Wash2	4	1	30	0	600	7	OFF	0	80	0	1
6	Wash3	5	1	30	0.5	600	7	OFF	0	80	0	1
7	Elute	6	5	60	0	100	6	65	0	80	0	1
8	Drop	5	0.5			600	5	OFF		80		

注：1、设置升温动作同步；降温风扇关闭，降温动作同步。

2、若对本实验还有疑问请联系倍沃技术支持，*电话：400-115-2855*。

96A 自动化提取 SOP

适配 Allsheng Auto-Pure 96A

6. 取 1-5 mL 菌液，按照前面的**步骤 3-6** 进行操作得到裂解液上清液。

7. 取 96 孔深孔板，按照下表 1 加入样本和试剂至板中。若为非预装版试剂盒，以下试剂都需自行加入。

注：每一孔的总体积不能超过 1000 μL，否则可能溢出。

表 1. 96 孔板设置

96 孔板编号	对应仪器板位	样本/试剂	体积(μL)	预分装版试剂盒说明	试剂说明
Banding	1	预处理上清液	500	需用户自行加入（先加）	尽量取澄清的裂解液，然后依次加入 RET 和酒精得到混合液。
		100%酒精	200	需用户自行加入	
		Buffer RET	250	已分装	
Beads	3	Plasmid-L Beads	35	已分装，无需用户自行加入	注：Beads 在使用前需涡旋混匀 1 min，充分混匀磁珠，以确保加入各孔无差异
		磁珠保存液(或 ddH_2O)	65		
		磁棒套	/		
Wash 1	4	Buffer KB	500	已分装，无需用户自行加入	/
Wash 2	5	DNA Wash Buffer	600	已分装，无需用户自行加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
Wash 3	6	DNA Wash Buffer	600	已分装，无需用户自行加入	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
Elute	8	Endofree Elution Buffer	100	已分装，无需用户自行加入	洗脱体积可根据具体要求调整。至少加入 60 μL 进行洗脱。

8. 启动仪器，在仪器中放置好新的洁净磁棒套，并将装有样品和试剂的 96 孔板安放至仪器中对应的板位上。

9. 执行程序请参考表 2。（该程序设定仅供参考）

10. 待程序完成后收集产物：取出 96 孔板，吸取 Elute 板（8 号位）内的提取产物至无菌离心管中，检测后于-20℃或-80℃保存。

表 2. 提取程序

步骤	名称	板位	混合时间(min)	混合幅度(%)	等待时间(min)	容积(μL)	混合速度(1-10)	温度(℃)	吸磁段数(0-5)	循环次数(1-10)	吸磁速度(1-10)	第一段吸磁时间(s)	第二段吸磁时间(s)	第三段吸磁时间(s)	第四段吸磁时间(s)	第五段吸磁时间(s)	液面停留(0-30s)
1	Load	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Beads	3	0	80	0	100	-	OFF	1	2	1	20	-	-	-	-	0
3	Banding	1	5	80	0	1000	3	OFF	3	2	1	15	15	15	-	-	0
4	Wash1	4	0.5	80	0	500	5	OFF	3	2	1	10	10	15	-	-	0
5	Wash2	5	0.5	80	0	600	5	OFF	3	2	1	10	10	15	-	-	0
6	Wash3	6	0.5	80	2	600	5	OFF	3	2	1	10	10	15	-	-	0
7	Elute	8	5	80	0	100	3	65	4	2	1	30	30	30	30	-	30
8	Drop	3	0.2			750	6										
9	Unload	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

注：1、设置升温动作同步；降温风扇关闭，降温动作同步。

2、若对本实验还有疑问请联系倍沃技术支持，*电话：400-115-2855*。

购买须知

根据说明书使用时，本产品应按其标签和倍沃的文献中所述执行。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示，包括但不限于适销性或适合某一特定目的的保证。在选择倍沃时，违反本保证的，倍沃唯一的义务和买方的唯一补救措施是更换产品，倍沃应当没有任何直接或间接的，或使用引起的附带损害，或无法使用它产品的责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电与我们联系，或访问我们的网站

全国服务热线：400-115-2855

技术邮箱：tech@beiwobiomedical.com

市场邮箱：market@beiwobiomedical.com

倍沃官网：www.beiwobiomedical.com

附录

表 1. 32 通道预装版试剂盒规格及型号目录表

Catalog#	BW-MPD1220-A32-10	BW-MPD1220-A32-11	BW-MPD1220-A32-12
Preps	1 x 32	10 x 32	20 x 32
8 孔磁棒套	4	40	80
Plasmid-L Beads	35 μL	35 μL	35 μL
Buffer A1	10 mL	85 mL	165 mL
Buffer N3	5 mL	25 mL	50 mL
Buffer RET	250 μL	250 μL	250 μL
Buffer KB	500 μL	500 μL	500 μL
DNA Wash Buffer	600 μL	600 μL	600 μL
RNase A (20 mg/mL)	100 μL	700 μL	1.4 mL
EndoFree Elution Buffer	100 μL	100 μL	100 μL
User Manual	1	1	1

注：Buffer A1、Buffer B1、Buffer N3 以及 RNase A 为瓶装试剂总剂量，其余上述试剂均为单孔试剂量。

本试剂盒 1 套包括 4 个 8 孔磁棒套和 2 块 96 孔深孔板。

表 1. 96 通道预装版试剂盒规格及型号目录表

Catalog#	BW-MPD1211-A96-10	BW-MPD1211-A96-11	BW-MPD1211-A96-12
Preps	1 x 96	4 x 96	10 x 96
96 孔磁棒套	1	4	10
Plasmid-L Beads	35 μL	35 μL	35 μL
Buffer A1	25 mL	100 mL	245 mL
Buffer B1	25 mL	100 mL	245 mL
Buffer N3	8 mL	30 mL	75 mL
Buffer RET	250 μL	250 μL	250 μL
Buffer KB	500 μL	500 μL	500 μL
DNA Wash Buffer	600 μL	600 μL	600 μL
RNase A (20 mg/mL)	210 μL	810 μL	2 x 1 mL
EndoFree Elution Buffer	100 μL	100 μL	100 μL
User Manual	1	1	1

注：Buffer A1、Buffer B1、Buffer N1 以及 RNase A 为瓶装试剂总剂量，其余上述试剂均为单孔试剂量。

本试剂盒 1 套包括 1 个 96 孔磁棒套和 6 块 96 孔深孔板（Plasmid-L Beads x1，Buffer RET x1，Buffer KB x1，DNA Wash Buffer x2，EndoFree Elution Buffer x1）。

www.beiwobiomedical.com

扫码了解更多

杭州总部
地址：浙江省杭州市余杭区余杭塘路 2636 号 1 幢 101 室
电话：0571-56391588　　传真：0571-56390383
电子邮箱：market@beiwobiomedical.com

美国
地址：美国加利福尼亚州圣地亚哥市罗赛尔大街 10637 号 C 单元
电话：1-858-597-0602　　传真：1-858-538-1698
电子邮箱：info@biomiga.com