Ver: 2102

质粒小量提取试剂盒 I（磁珠法）

（BW-MPD1211）

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 5
96A 自动化提取 SOP 6
购买须知 8
附录 9

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-MPD1211-A00-00	BW-MPD1211-A00-01	BW-MPD1211-A00-02
Preps	50	250	1000
Plasmid-L Beads	1.25 mL	6.25 mL	26 mL
Buffer A1	9 mL	43 mL	180 mL
Buffer B1	9 mL	43 mL	180 mL
Buffer N1	13 mL	61 mL	245 mL
Buffer MKB*	20 mL	95 mL	190 mL x 2
DNA Wash Buffer**	20 mL	40 mL x 2	80 mL x 4
RNase A (20 mg/mL)	65 µL	320 µL	620 µLx 2
Elution Buffer	6 mL	26 mL	100 mL
User Manual	1	1	1

*Buffer MKB：使用前请将 20 mL (BW-MPD1211-A00-00) 或 95 mL (BW-MPD1211-A00-01) 或 190 mL (BW-MPD1211-A00-02) 96-100%乙醇加入至 Buffer MKB 瓶内。

**DNA Wash Buffer：使用前请将 80 mL (BW-MPD1211-A00-00)或 160 mL (BW-MPD1211-A00-01)或 320 mL (BW-MPD1211-A00-02) 96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。

产品简介

质粒小提试剂盒（磁珠法）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。纯化后的 DNA 可用于下游应用，如酶切图谱、文库筛选、测序、基因治疗和基因接种等。

本试剂盒用于快速高效提取 1～2 mL 菌液的质粒 DNA，最高产量可达到 20 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 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 N1和Buffer MKB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 mL-2 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。

   注：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 **170 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 **170 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 **240 μL Buffer N1**，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 530 μL 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 **25 μL Plasmid-L Beads**，涡旋混匀 1 min 左右。

   注：Plasmid-L Beads 使用前需充分涡旋混匀。

8. 混匀后室温静置 5-10 min，期间需手动或涡旋混匀 3-5 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：孵育期间一直混匀有助于提高得率。

9. 从磁力架上取下离心管，加入 **750 μL Buffer MKB**，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 **750 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 **50-100 μL 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. 按照前面的**步骤 1-6** 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	试剂说明
Banding	1/7 列	预处理混合液	530	需用户自行加入	尽量取澄清的裂解液。
Beads	2/8 列	Plasmid-L Beads	25	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)	75	已分装，无需用户自行加入	
Wash 1	3/9 列	Buffer MKB	750	已分装，无需用户自行加入	/
Wash 2	4/10 列	DNA Wash Buffer	750	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	750	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	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 Elution Buffer 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 6/12 列 Elution 孔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	Beads	2	0	10	0	100	1	OFF	0	80	0	1
2	Banding	1	5	60	0	530	5	OFF	0	80	0	1
3	Wash1	3	1	30	0	750	8	OFF	0	80	0	1
4	Wash2	4	1	30	0	750	8	OFF	0	80	0	1

5	Wash3	5	1	30	0.5	750	8	OFF	0	80	0	1
6	Elute	6	5	60	0	100	8	70	0	80	0	1

注：1、设置升温动作同步；吸磁方式：往复。

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

1. 按照前面的**步骤 1-6** 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

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	预处理裂解液	530	需用户自行加入	尽量取澄清的裂解液。
Beads	2	Plasmid-L Beads	25	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)	75	已分装，无需用户自行加入	
		磁棒套	/	/	
Wash 1	3	Buffer MKB	750	已分装，无需用户自行加入	/
Wash 2	4	DNA Wash Buffer	750	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	DNA Wash Buffer	750	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	8	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 Elution Buffer 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。

1. 执行程序请参考表 2。（该程序设定仅供参考）
2. 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	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Beads	2	0	80	0	100	1	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
3	Banding	1	5	80	0	530	5	OFF	3	2	1	1	1	1	-	-	0
4	Wash1	3	1	30	0	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
5	Wash2	4	1	30	0	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
6	Wash3	5	1	30	0.5	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
7	Elute	8	5	80	0	100	8	70	2	3	1	10	10	-	-	-	10
9	Unload	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

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-MPD1211-A32-10	BW-MPD1211-A32-11	BW-MPD1211-A32-12
Preps	1 x 32	10 x 32	20 x 32
8 孔磁棒套	4	40	80
Plasmid-L Beads	25 μL	25 μL	25 μL
Buffer A1	6 mL	55 mL	110 mL
Buffer B1	6 mL	55 mL	110 mL
Buffer N1	8 mL	77 mL	155 mL
Buffer MKB	750 μL	750 μL	750μL
DNA Wash Buffer	750 μL	750 μL	750 μL
RNase A (20 mg/mL)	40 μL	390 μL	770 μL
Elution Buffer	100 μL	100 μL	100 μL
User Manual	1	1	1

*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。其中 Plasmid-L Beads 置于磁珠保存液中，总体积为 100 μL。

*一套耗材包括 4 个 8 孔磁棒套和 2 块 96 孔深孔板。

表 2. 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	25 μL	25 μL	25 μL
Buffer A1	17 mL	66 mL	164 mL
Buffer B1	17 mL	66 mL	164 mL
Buffer N1	24 mL	93 mL	231 mL
Buffer MKB	750 μL	750 μL	750μL
DNA Wash Buffer	750 μL	750 μL	750 μL
RNase A (20 mg/mL)	120 μL	465 μL	1.2 mL
Elution Buffer	100 μL	100 μL	100 μL
User Manual	1	1	1

*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。其中 Plasmid-L Beads 置于磁珠保存液中，总体积为 100 μL。

*一套耗材包括 1 个 96 孔磁棒套和 6 块 96 孔深孔板（Plasmid-L Beads x1，Buffer KB x1，DNA Wash Buffer x2，Elution Buffer x1，空板 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