

全自动质粒小量提取试剂盒 (BW-MPD2001)

本试剂盒（搭配倍沃SP-1604仪器）采用独特的纳米磁珠结合技术，具有高效率、高质量高通量和自动化等特点。可从1~4 mL菌液中获取高达50 μ g质粒DNA。纯化后的质粒DNA可用于下游应用，如酶切图谱、文库筛选、测序等。

试剂盒组成

制备试剂与耗材					
Catalog#		BW-MPD2001-A-00	BW-MPD2001-A-01		
Buffer A1		250mL	500mL		
Buffer B1		250mL	500mL		
Buffer C1		250mL	500mL		
RNase A (60mg/mL)		1mL	2mL		
Buffer EF		15mL	15mL		
纯化试剂盒					
Catalog#		BW-MPD2001-B-00	BW-MPD2001-B-01	BW-MPD2001-B-02	BW-MPD2001-B-03
Prep		8T*1	8T*10	16T*1	16T*10
Sample	Well 1/2	-	-	-	-
Wash I	Well 3	800 μ L	800 μ L	800 μ L	800 μ L
Wash II	Well 4	900 μ L	900 μ L	900 μ L	900 μ L
Wash III	Well 5	900 μ L	900 μ L	900 μ L	900 μ L
Elution	Well 6	80 μ L	80 μ L	80 μ L	80 μ L
封口膜		1	10	1	10
磁棒套		1	10	2	20

产品贮存及稳定性

所有试剂及耗材室温（4-28 $^{\circ}$ C）保存，产品有效期自生产之日起12个月。

使用前注意事项

- RNase A: 室温下 (15-25°C) 可稳定贮藏一年; 使用前上下颠倒, 取 2.5mL 加入 500mL Buffer A1 中混匀使用, 并于 4°C 保存, 可稳定保存 6 个月。
- Buffer B1: 低温保存时可能会形成沉淀。使用前请于 37°C 水浴加热或至沉淀完全溶解、溶液澄清后使用。使用后确保 Buffer B1 瓶盖拧紧。
- 在使用前检查注液孔位, 避免堵住风险, 若注液孔堵住, 请用直径小于 0.5mm 的针戳开或用大量热水冲洗。
- 异丙醇需客户自备

细菌培养

质粒拷贝数: 质粒 DNA 的产量取决于复制的来源和质粒的大小。该方案针对高拷贝数质粒纯化进行了优化。对于低拷贝数质粒, 培养体积和缓冲液体积都需要相应地扩大。如需进一步了解相关信息可联系我们技术人员, 相关质粒信息参考表 1。

表 1 常规质粒及其产量

质粒	载体骨架	拷贝数	预期产率 (µg/1 mL)
pSC101	pSC101	5	0.1-0.2
pACYC	p15A	10-12	0.4-0.6
pSuperCos	pMB1	10-20	0.4-1
pBR322	pMB1	15-20	0.6-1
pGEM ^R	Muted pMB1	300-400	6-7
pBluescript ^R	ColE1	300-500	6-8
pUC	Muted pMB1	500-700	8-12

宿主菌信息: 用于质粒的宿主菌对质粒产量有显著影响。诸如 TOP10、DH5α 和 C600 等宿主菌株可产生高质量的质粒 DNA。EndA+ 菌株如 JM101、JM110、HB101、TG1 及其衍生物, 由于裂解过程中释放的内源性核酸内切酶或高碳水化合物, 通常会质粒产量较低。如果产率未达到预期, 我们建议将质粒转化为 endA- 菌株。有关 endA 信息, 请参阅表 2。

表 2 EndA 类型 宿主菌相关信息

End A- 宿主菌							
DH5α	DH1	DH21	JM106	JM109	SK2267	SRB	XLO
TOP10	DH10B	JM103	JM107	SK1590	MM294	Stb12 TM	XL1-Blue
BJ518 2	DH20	JM105	JM108	SK1592	Select96 TM	Stb14 TM	XL10-Gold
End A+ 宿主菌							
C600	JM110	RR1	ABLE [®] C	CJ236	KW251	P2392	BL21(DE3)
HB101	TG1	TB1	ABLE [®] K	DH12S TM	LE392	PR700	BL21(DE3) pLysS
JM101	JM83	TKB1	HMS174	ES1301	M1061	Q358	BMH71-18
All NM Strains				All Y Strains			

细菌培养: 该试剂盒设计主要用于提取在标准 LB 培养基 (Luria Bertani) 中生长的质粒, 12-16 小时生长至 OD 600 2.0 至 3.0。如果使用富含培养基 (如 TB 或 2 × YT), 请确保细胞密度不超过 3.0 (OD600)。同时裂解体系相比比例较高, 否则导致 DNA 产量和纯度低。

操作步骤

1. 开机，打开仪器开关，确认仪器处于正常状态。
2. 放置耗材及溶液，将Buffer A1、Buffer B1、Buffer C1、Buffer D1、废液瓶、清水瓶安装到相应的位置

溶液名称	对应溶液瓶位置
Buffer A1	A
Buffer B1	B
Buffer C1	C
Buffer D1 (异丙醇)	D

3. 选择功能页面-清洗管道-开启，A、B、C、D清洗量为5mL，清洗次数5次，观察注液口有无堵住的情况。（若有堵住的情况，请用直径小于0.5mm的针戳开，有液体流出后再次清洗管道）。
4. 使用配套开孔器，在预装板第1、2、7、8列加入菌液，样品为8个选择孔位1、2列，样品16个选择孔位1、2、7、8列，不足8的倍数请用清水补充。使用封口膜封住加样后96孔板，板式离心机4000rpm离心不小于5分钟，离心后的96孔板撕膜正放仪器卡板中，无左右晃动和翘边现象，安装磁棒套。
5. 程序-编辑配方-上清-选择孔位（8个样品，请选择孔位1、2；16个样本请选择孔位1、2、7、8。），设置仪器参数，可按照本公司推荐的程序进行编辑配方-保存配方-设置配方名称。

上清参数建议

	注液量	注液速度mL/s	混匀时间s	混匀次数	静置时间	混匀速度	混匀幅度	排空次数
泵A	1.6	4.00	20.0	4	/	500	3	5
泵B	1.8	4.00	20.0	1	240	20.0	15	5
泵C	2.0	4.00	20.0	4	/	150	20	5
泵D	2.30	4.00	20.0	1	/	500	20	5

注：当菌液拷贝数较低时，泵D注液量可适当减少，但不低于总量的29%

纯化参数建议

序号	孔位	容积	混合时间	混合速度	混合幅度	吸磁速度	吸磁时间	吸磁次数	悬停时间	温度设定
1	1	600	0	0	0	0.8	1	1	0	
2	3	900	5	300	10	0	0	0	0	

3	2	600	0	0	0	0.8	10	1	0	
4	3	900	5	300	10	0	0	0	0	
5	1	600	0	0	0	0.8	10	1	0	
6	3	900	5	300	10	0	0	0	0	
7	10	0	0	0	0	0	0	0	0	
8	1					5	10	1	0	
9	2					5	10	1	0	
10	3	900	5	300	10	0	0	0	0	
11	4	900	15	300	10	1	5	1	0	
12	1	900	60	300	10	0	0	0	0	
13	2	900	60	300	10	1	15	1	0	
14	1	900	0	0	0	1	15	1	0	
15	4	900	60	300	10	1	15	1	0	
16	5	900	90	300	10	1	15	1	120	
17	6	80	60	300	10	0.8	30	1	0	65℃
18	5	900	5	300	10	0	0	0	0	

注：设置提前一步加热。吸磁方式：分1段吸磁。晾干位置：试剂盒上部。

加热方式：提前一步加热，提前加热可能导致洗脱液挥发，可根据洗脱液体积，调整加热步数。

6. 选择配方，写入配方，返回主界面，确认配方，选择重新排空（后续实验可不选），点击启动。
7. 收样，仪器自动运行结束后将96孔板取出，转移第6列和第12列溶液至1.5mL离心管，大于13000rpm离心5分钟，转移液体用作后续实验。
8. 继续使用仪器时，可直接点击启动。（观察注液孔是否堵住）结束实验参考步骤6、7。
9. 当不再进行质粒提取时，点击功能界面-试剂回抽，回抽结束后，将Buffer A1、Buffer B1、Buffer C1和Buffer D1(异丙醇)取出，Buffer A1需要存放于4℃中，Buffer B1、Buffer C1和Buffer D1(异丙醇)放置于常温即可，点击清洗管道-开启，A、B、C、D清洗量为5mL,清洗次数5次(B清洗次数可适当增加)清洗管道，清洗结束后确认仪器各工位都已归位处于正常状态，关闭仓门，点击紫外进行消杀，当消杀完成后关闭电源。

购买须知

根据说明书使用时，本产品保证性能符合产品标示和倍沃文献中的描述。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示保证，包括但不限于适销性或特定用途适用性等。倍沃对违反本保证的唯一义务和购买者的唯一补救措施是由倍沃选择更换产品。倍沃对因使用产品、使用产品结果或无法使用产品而引起的任何直接、间接、后果性或附带损害不承担任何责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电 400-115-2855 与我们联系，或访问我们的网站

www.beiwobiomedical.com



登录官方网站获取产品手册等更多信息：www.beiwobiomedical.com