

# 质粒小提量取试剂盒 II (磁珠法)

## (BW-MPD1213)

### 目录

产品组成.....	2
保存条件.....	3
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.....	4
20A 自动化提取 SOP.....	6
32A 自动化提取 SOP.....	8
96A 自动化提取 SOP.....	10
24A 自动化提取 SOP.....	12
购买须知.....	14

杭州倍沃医学科技有限公司

## 产品组成

### 手工版

Catalog#	BW-MPD1213-A00-00	BW-MPD1213-A00-01	BW-MPD1213-A00-02
Preps	50	250	1000
Plasmid-L Beads	3.7 mL	17.7 mL	71.5 mL
Buffer A1	30 mL	130 mL	2 x 255 mL
Buffer B1	30 mL	130 mL	2 x 255 mL
Buffer N3	35 mL	155 mL	3 x 210 mL
Buffer MKB	30 mL	150 mL	2 x 250 mL
DNA Wash Buffer*	24 mL	2 x 54 mL	4 x 100 mL
Elution Buffer	20 mL	80 mL	310 mL
RNase A (20 mg/mL)	150 µL	750 µL	2 x 1.5 mL
User Manual	1	1	1

\*Buffer MKB: 使用前请将 30 mL (BW-MPD1213-A00-00) 或 150 mL (BW-MPD1213-A00-01) 或 250 mL (BW-MPD1213-A00-02) 96-100%乙醇加入至 MKB Buffer 瓶内。

\*\* DNA Wash Buffer: 使用前请将 96 mL (BW-MPD1213-A00-00) 或 216 mL (BW-MPD1213-A00-01) 或 400 mL (BW-MPD1213-A00-02) 96-100%乙醇加入至每个 DNA Wash Buffer 瓶内。

### A32 版

Catalog#	BW-MPD1213-A32-10	BW-MPD1213-A32-11	BW-MPD1213-A32-12
Preps	1 x 32	10 x 32	20 x 32
Buffer A1	20 mL	200 mL	2 x 200 mL
Buffer B1	20 mL	200 mL	2 x 200 mL
Buffer N3	25 mL	250 mL	2 x 250 mL
RNase A (20mg/mL)	100 µL	1mL	2 x 1mL
User Manual	1	1	1

## 产品简介

磁珠法质粒小提试剂盒 II 型采用磁珠与质粒 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 < 15 mL 菌液的质粒 DNA, 最高产量可达到 60 µg。本产品可匹配多种自动化核酸提取仪, 如 Allsheng Auto-Pure 20A。

## 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°C)，长期储存于 4°C。Plasmid-L Beads 可常温运输，需 4°C 保存。其余试剂及用品可保存于室温 (15-25°C)。

## 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°C 保存。
- Buffer B1: 低于室温时会沉淀，请于 37°C 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°C) 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°C)
- 高速离心机
- 磁力架或自动化仪器
- 15 ml 和 1.5 mL 高速离心管

## 安全信息

Buffer N3 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 5-15 mL LB 培养基 (含适量抗生素), 37°C 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单菌落至含有适量抗生素的 LB 培养基内, 37°C, 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°C 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 **500 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 **500 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°C 加热, 使沉淀溶解后再使用。
5. 加入 **150 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 15 mL 离心管中 (避免吸到沉淀), 加入 **450 µL Buffer N3** 和 500 µL 无水乙醇, 混匀得到裂解液混合液。
8. 加入 **70 µL Plasmid-L Beads**, 涡旋混匀 1 min 左右。室温静置 10 min, 期间需手动或涡旋混匀 3-5 次。孵育结束后将离心管置于磁力架上静置 2-3min 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。增加磁珠量至 90 µL, 可适当增加得率。  
注: 孵育期间一直混匀有助于提高得率。  
注: 若管上有磁珠残留, 可以进行瞬时离心后上磁力架或者保持离心管在磁力架上, 整体上下颠倒 2-3 次, 使磁珠完全吸附。
9. 从磁力架上取下离心管, 加入 **1 mL Buffer MKB**, 涡旋混匀 1 min。  
注: 此步骤可先加入 **500 µL Buffer MKB**, 将所有磁珠及液体转移至 1.5 mL 离心管中。再加入 **500 µL Buffer MKB** 洗涤离心管壁上的残留磁珠, 然后一并转移到 1.5 ml 离心管中。
10. 将离心管置于磁力架上, 静置 1 min (确保所有磁珠被吸附即可), 弃去上清液, 保留磁珠, 取下离心管。
11. 加入 **1 mL DNA Wash Buffer** (确保加入 96-100%乙醇), 涡旋混匀 1 min, 结束后将离

心管置于磁力架静置 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。

12. 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。

13. 从磁力架上取下离心管, 加入 **150-300  $\mu$ L Elution Buffer** 或者细胞培养水, 涡旋混匀 1 min, 室温孵育 5 min, 期间混匀 1-2 次再上磁力架, 静置 3-5 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 $^{\circ}$ C 或 -80 $^{\circ}$ C 保存。

注: 加入洗脱液后 65 $^{\circ}$ C 孵育 5min, 或者进行二次洗脱, 提高 DNA 产量。

注: 为减少磁珠残留, 可适当延长吸磁时间, 或将取出的产物再放置于磁力架上 2-3 min, 进行吸磁, 也可通过离心处理。

注: 吸取产物时, 可少吸取 5-10  $\mu$ L, 以避免将磁珠吸出。

如需匹配自动化平台, 请联系倍沃技术支持, 电话: 400-115-2855。

## 20A 自动化提取 SOP

### 适配 Allsheng Auto-Pure 20A

1. 取 5-15 mL 菌液，按照前面的**步骤 3-6** 进行操作得到裂解液混合液。
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：孔 1 的总体积不能超过 5000  $\mu\text{L}$ ，其余孔位的总体积不能超过 1000  $\mu\text{L}$ ，否则可能溢出。一个样本一个孔。

表 1.7 连孔板设置

孔板每列名称	对应孔位	样本/试剂	体积 ( $\mu\text{L}$ )	预分装版试剂盒说明	非预装版试剂说明
Banding	孔 1	上清液	全部	尽量取澄清的裂解液；再加入 100%无水乙醇。 已分装，无需用户自行加入	依次加入 N3、澄清的裂解液和 100%无水乙醇混匀。
		100%无水乙醇	500		
		Buffer N3	450		
Beads	孔 2	Plasmid-L Beads	70	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 <sub>2</sub> O)	30	已分装，无需用户自行加入	
Wash 1	孔 3	Buffer MKB	1000	已分装，无需用户自行加入	/
Wash 2	孔 4	DNA Wash Buffer	1000	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	孔 5	DNA Wash Buffer	1000	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	孔 7	Elution Bufferr	200	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 $\mu\text{L}$ 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 7 连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 7 连孔板，吸取 Elute 板（孔 7）内的提取产物至无菌离心管中，检测后于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 或 -80 $^{\circ}\text{C}$ 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 (°C)	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	-	-	2000	7	OFF		80		
2	Beads	2	0	60	0	100	-	OFF	0	80	0	1
3	Banding	1	5	300	0	2000	7	OFF	0	80	0	1
4	Wash1	3	0.5	120	0	1000	4	OFF	0	80	0	1
5	Wash2	4	0.5	120	0	1000	4	OFF	0	80	0	1
6	Wash3	5	0.5	120	1	1000	4	OFF	0	80	0	1
7	Elute	7	5	180	0	200	6	65	0	80	0	1
8	Drop	2	0.5			100	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。往复吸磁。

2、若对本实验还有疑问请联系倍沃技术支持，电话：400-115-2855。

## 32A 自动化提取 SOP

### 适配 Allsheng Auto-Pure 32A

1. 取 5-15 mL 菌液，按照前面的**步骤 3-7** 进行操作得到裂解液混合液。
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  $\mu\text{L}$ ，否则可能溢出。一个样本需分成两个孔。

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 ( $\mu\text{L}$ )	预分装版试剂盒说明	非预装版试剂说明
Banding	1/7 列	预处理混合液	<1000	需用户自行加入	依次加入 N3、澄清的裂解液和 100%无水乙醇混匀。
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 <sub>2</sub> O)	65	已分装，无需用户自行加入	
Wash 1	3/9 列	Buffer MKB	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	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 $\mu\text{L}$ 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 Elute 板（6/12 列）内的提取产物至无菌离心管中，检测后于 -20°C 或 -80°C 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 (°C)	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

- 取 10 mL 菌液，按照前面的**步骤 3-7** 进行操作得到裂解液混合液。
- 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  $\mu\text{L}$ ，否则可能溢出。一个样本需分成两个孔。

表 1. 96 孔板设置

96 孔板 编号	对应仪 器板位	样本/试剂	体积( $\mu\text{L}$ )	试剂说明
Banding	1	裂解液混合液	<1000	尽量取澄清的裂解液，然后依次加入 Buffer N3 和酒精得到混合液。
Beads	3	Plasmid-L Beads	35	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 <sub>2</sub> O)	65	
		磁棒套	/	
Wash 1	4	Buffer MKB	500	/
Wash 2	5	DNA Wash Buffer	600	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
Wash 3	6	DNA Wash Buffer	600	首次使用需加入瓶身上对应的无水乙醇
Elute	8	Elution Buffer	100	洗脱体积可根据具体要求调整。

- 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。
- 执行程序请参考表 2。（该程序设定仅供参考）
- 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°C 或 -80°C 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 (°C)	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 (0-30 s)
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	4	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	7	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	6	0.2			600	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。

## 24A 自动化提取 SOP

### 适配 Allsheng Auto-Pure 24A

1. 取 10 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 24 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 10000  $\mu\text{L}$ ，否则可能溢出。

表 1. 孔板设置

孔板编号	对应仪器板位	样本/试剂	体积 ( $\mu\text{L}$ )	非预分装版试剂说明
Bandin g	1	裂解液上清液	全部	依次加入 Buffer N3、裂解液和 100% 无水乙醇混匀。
		Buffer N3	450	
		100%无水乙醇	500	
Beads	3	Plasmid-L Beads	70	注：Beads 在使用前需涡旋混匀 1min，充分混匀磁珠，以确保加入各孔无差异。
		磁棒套	/	磁棒套必须放平稳。
Wash 1	4	Buffer MKB	1000	首次使用 DNA Wash Buffer 时，需加入瓶身上对应的无水乙醇。
Wash 2	5	DNA Wash Buffer	1000	
Wash 3	6	DNA Wash Buffer	1000	
Elute	8	Elution Buffer	200	洗脱体积可根据具体要求调整。

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 24 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 24 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  $-20^{\circ}\text{C}$  或  $-80^{\circ}\text{C}$  保存。

表 2. 自动化程序设定

步骤	名称	板位	混合时间 (min)	混合幅度 (%)	等待时间 (min)	容积 (uL)	混合速度 (1-10)	温度 (°C)	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 (0-30 s)
1	Load	3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Mix	1	0.2	80	0	1000	3	OFF	0								
3	Beads	3	0	80	0	70	5	OFF	1	2	1	20					
4	Binding	1	5	80	0	1000	2	OFF	3	2	1	10	15	10	-	-	0
5	Wash1	4	0.5	80	0	1000	2	OFF	3	2	1	10	10	10	-	-	0
6	Wash2	5	0.5	80	0	1000	2	OFF	3	2	1	10	10	10	-	-	0
7	Wash3	6	0.5	80	4.0	1000	2	OFF	3	2	1	10	10	10	-	-	0
8	Elute	8	5	80	0	150	1	65	1	3	1	30	-	-	-	-	30
9	Drop	6	0.2	-	-	1000	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
10	Unload	3															

注：1、设置为先升温后动作；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 Biomiga 技术支持，再进行实验。

## 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 400-115-2855 与我们联系，或访问我们的网站 [www.beiwobiomedical.com](http://www.beiwobiomedical.com)

杭州倍沃医学科技有限公司