



磁珠法质粒抽提试剂盒

目录

1. 产品介绍.....	1
2. 使用流程.....	1
3. 问题及解决方案.....	2
4. 订购信息及相关产品.....	2

1. 产品介绍

磁珠法质粒抽提试剂盒采用经典的 SDS 碱裂解法充分裂解释放质粒，再通过醇介导将质粒结合于纳米磁珠表面，经洗液洗去蛋白等杂质，最后洗脱得到高纯的质粒产物。产物可用于 PCR、载体构建、核酸杂交等下游实验。

2. 使用流程

2.1 注意事项

- 1) 试剂时间长可能会出现沉淀，使用前轻轻摇晃混合均匀。也可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- 2) 磁珠使用前充分摇匀。RNase 保存在 -20℃。试剂盒其他成分置于常温保存。
- 3) Wash Buffer 使用前参照瓶子上标签加入无水乙醇并混合均匀。

2.2 手动操作流程

(1) 样品准备

- 1) 取 1-2 ml 菌体离心，去掉上清。
 - 2) 将 100 μ l P1 Buffer 加入沉淀中，将菌体充分悬浮。注意：使用前请添加 0.5 μ l RNase 到 P1 Buffer。
 - 3) 加 100 μ l P2 Buffer 到已悬浮好的菌液中，缓慢混合均匀（不能剧烈震荡），进行裂解，操作时间不能超过 5 min（防止基因组污染）。
 - 4) 再向裂解体系中加入 100 μ l P3 Buffer，缓慢混合均匀（不能剧烈震荡），出现片状沉淀。
- 离心 12000 rpm，10 min，取上清。

(2) 质粒抽提

- 1) 将样品加入 1.5 ml EP 管中，加入等体积的异丙醇，150 μ l 磁珠，充分混匀，室温孵育 5-10 min，确保磁珠处于悬浮状态。
- 2) 孵育完后将离心管置于磁性分离架上 20 s，并用移液器小心吸尽残液。磁珠和混合液分离的时间以磁珠完全贴壁为准，可以适当缩短和延长，后续步骤中磁珠和混合液分离的时间同样遵照此标准。
- 3) 加入 500 μ l Wash Buffer，涡旋混匀后将离心管置于磁性分离架上 20 s，用移液器小心吸尽残液。
- 4) 重复步骤 3) 2 次。最后一次漂洗结束后，用移液器小心吸尽残液，室温晾干 5 min。
- 5) 加入适量的 Elution Buffer，室温下混匀 5 min，将离心管置于磁性分离架上 20 s，将上清移至另一干净离心管中，即得质粒 DNA。

2.3 仪器操作流程

(1) 样品准备

- 1) 取 1-2 ml 菌体离心，去掉上清。
 - 2) 将 100 μ l P1 Buffer 加入沉淀中，将菌体充分悬浮。注意：使用前请添加 0.5 μ l RNase 到 P1 Buffer。
 - 3) 加 100 μ l P2 Buffer 到已悬浮好的菌液中，缓慢混合均匀（不能剧烈震荡），进行裂解，操作时间不能超过 5 min（防止基因组污染）。
 - 4) 再向裂解体系中加入 100 μ l P3 Buffer，缓慢混合均匀（不能剧烈震荡），出现片状沉淀。
- 离心 12000 rpm，10 min，取上清。

(2) 质粒提取（以 Purifier 96 为例）

- 1) 一号位、一号板：240 μ l 样品，100 μ l 磁珠和 238 μ l 异丙醇。
- 二号位、二号板：500 μ l Wash Buffer。
- 三号位、三号板：400 μ l Wash Buffer。
- 四号位、四号板：100 μ l Elution Buffer。

2) 程序设定



Step	Name	Well position	Time	Agitation		Out of cube
				Amplitude	Frequency	
1	Load	1				
2	Binding	1	10min	middle	middle	
3	Get Beads	1	120s			
4	Washing	2	60s	middle	middle	
5	Get Beads	2	120s			120s
6	Washing	3	60s	middle	middle	
7	Get Beads	3	120s			240s
8	Incubate	4	5min	55℃		
9	Elution	4	150s	middle	middle	
10	Get Beads	4	120s			
11	Unload	2				

3) 样品转移

用移液器将样品转移。使用分光光度计检测 A260，并进行定量，A260/A280 值在 1.7-1.9 之间为最佳。用琼脂糖电泳检测最终纯度。

3. 问题及解决方案

常见问题	建议
提不到质粒或产量很低	菌种老化:涂布平板培养后,重新挑选新菌落进行液体培养。
	菌体生长不正常:检查抗生素是否失效,培养时间不要超过16小时。
	Buffer P1加入后一定要充分悬浮细菌,要保证看不到结块的菌,否则细菌不易被裂解,质粒产量会显著下降。
	Buffer P2是否有沉淀。如有沉淀可用水浴(37℃)加热溶解,混匀后使用。
质粒未完全回收	减少上样量或增加磁珠量,确保样品充分吸附。
	样品裂解后粘稠,Buffer P3使用前预冷;减少菌体量或适当增加Buffer P1、P2、P3的体积,裂解充分。
	确保磁珠与样品充分混匀,吸附时磁珠一直保持悬浮状态。
洗脱液中无/很少质粒DNA	确保wash buffer中加入相应的乙醇,用完后要密封保存,防止挥发。
	确保洗脱液中的盐浓度和pH
	磁珠风干时间太长,磁珠未完全分散。
质粒纯度不高,有污染	基因组污染:Buffer P2和P3加入后轻轻摇晃,防止基因组断裂。
	裂解后样品粘稠可减少菌体量。
	RNA污染:检查RNase是否有问题,适当增加RNase的用量。洗脱液中加入RNase消化后乙醇沉淀。
	裂解时间太长:整个裂解过程不要超过5min。
	质粒降解:检查Buffer是否有核酸酶污染,操作戴手套。

4. 订购信息及相关产品

名称	货号	规格
Plasmid MiniPrep Kit (Magsilica Beads)	S3200	2.5 ml, 50 次
	S3201	10 ml, 200 次
	S3202	50 ml, 1000 次
Plasmid MiniPrep Kit (Magsilica Beads, 96wells Plate)	S3203	10*96, 1000 次
	S3204	50*96, 5000 次