



双磁珠法质粒 DNA 提取试剂盒（免离心）

货号：C6306

规格：100T、300T

产品介绍

双磁珠法质粒 DNA 提取试剂盒（免离心）适用于质粒 DNA 的提取，后续可用于各种分子学实验，如测序，酶切，连接，转化和文库筛选等。

DNA 在高盐条件下结合于硅基包被的 Magbeads 表面，经过多次清洗，去除杂蛋白等，低盐条件下洗脱，得到高纯度的 DNA。

产品信息：

试剂盒组分	100T	300T
Buffer 1	21ml	63ml
Buffer 2	21ml	63ml
Buffer 3	11ml	32ml
除杂磁珠	4.8ml	14ml
核酸吸附磁珠	3.2ml	9.5ml
清洗液	63ml	189ml
洗脱液	11ml	33ml
RNaseA	210ul	630ul

保质条件：除杂磁珠、核酸吸附磁珠 2-8℃保存，RNaseA 于-20℃保存，其余试剂常温保存，有效期一年。

实验前准备：

器材：核酸提取仪（不同通道核酸提取仪可选：QP-AUT-16、QP-AUT-32、QN-AUT-96 等）、2.2mL 96 深孔板、磁棒套、离心管、磁力架、涡旋振荡器、移液器、恒温振荡器等；

试剂：80%乙醇、异丙醇。

操作步骤：

1. 手动操作步骤—96 孔板操作

1. 收集菌体于 96 孔深孔板中，离心弃上清。若使用 48 孔板收集菌体，可于 Buffer1 重悬后转移至 96 孔板中，再进行裂解中和等后续操作步骤。

2. 用 200μL Buffer1（确认是否加入 RNaseA）充分悬浮细菌沉淀。

注：a.不要残留细小菌块，可以使用涡旋振荡器震荡使菌体充分悬浮；

b.针对较难裂解的菌液样本，建议等比例适当增加 Buffer1、Buffer2 和 Buffer3 用量。

3. 加入 200μL Buffer2，于混匀仪上 1000rpm 混匀 2min，使菌体充分裂解，形成透明溶液。

注：混合时不可剧烈震荡，若使用前发现 Buffer2 出现浑浊，可 37℃水浴几分钟即可恢复澄清。

4. 加入 200μL Buffer3，于混匀仪上 1000rpm 混匀 3min，形成紧实絮块状。

5. 加入 45μL 除杂磁珠，于混匀仪上 1000rpm 混匀 1min，然后置于深孔板磁力架上磁吸 2-3min，将上清液转移至新的深孔板中。

注：针对沉淀量较多的菌液样本，建议增加除杂磁珠的用量。

6. 加入 30μL 核酸吸附磁珠和 0.5 倍上清体积的异丙醇，室温震荡结合 5min。

注：磁珠第一次取用前应充分涡旋混匀，每次吸取磁珠前涡旋 2-5s，以保证磁珠均一。

7. 将深孔板置于磁力架上，静置 1-2min，待溶液澄清后，尽可能吸弃上清。

8. 加入 600μL 清洗液，涡旋震荡 1min，重悬磁珠，而后将深孔板置于磁力架上，静置 1-2min，待溶液澄清后，吸弃上

清。

9. 加入 600μL 80%乙醇，涡旋震荡 1min，重悬磁珠，而后将深孔板置于磁力架上，静置 1- 2min，待溶液澄清后，吸弃上清。

10. 重复步骤 9 一次。

11. 在通风橱中通风静置 5min(确保乙醇挥发干净即可)。

12. 向磁珠中加入 60-100μL 洗脱液，涡旋混匀，室温震荡 5min（55℃恒温震荡 5min 洗脱效果更佳）。

注：加入洗脱液前，可以将洗脱液放在水浴锅中加热至 55℃，有助于更好地洗脱质粒 DNA。

13. 将深孔板置于磁力架上，待磁吸溶液澄清后吸取上清，转移到新样品板中，-20℃保存备用。

2. 机提—96 通道核酸提取仪操作步骤

1. 上样准备

在 96 孔板中分别参照下表用量加入每个相应板位，可同步完成 96 个样品的处理。

编号	1	2	3	4	5
试剂	样本处理最终上清液+ 核酸吸附磁珠 30μL+ 0.5 倍上清体积的异丙醇	清洗液 600μL	80%乙醇 600μL	80%乙醇 600μL	洗脱液 60-100μL

2. 样本处理

（1）收集菌体于 96 孔深孔板中，离心弃上清。若使用 48 孔板收集菌体，可于 Buffer1 重悬后转移至 96 孔板中，再进行裂解中和等后续操作步骤。

（2）用 200μL Buffer1（确认是否加入 RNaseA）充分悬浮细菌沉淀。

注：a.不要残留细小菌块，可以使用涡旋振荡器震荡使菌体充分悬浮；

b.针对较难裂解的菌液样本，建议等比例适当增加 Buffer1、Buffer2 和 Buffer3 用量。

（3）加入 200μL Buffer2，于混匀仪上 1000rpm 混匀 2min，使菌体充分裂解，形成透明溶液。

注：混合时不可剧烈震荡，若使用前发现 Buffer2 出现浑浊，可 37℃水浴几分钟即可恢复澄清。

（4）加入 200μL Buffer3，于混匀仪上 1000rpm 混匀 3min，形成紧实絮块状。

（5）加入 45μL 除杂磁珠，于混匀仪上 1000rpm 混匀 1min，然后置于深孔板磁力架上磁吸 2-3min，将上清液转移至编号 1 的 96 深孔板中。

3. 上机提取

将准备好的 96 孔样品板按顺序放入核酸提取仪（QN-AUT-96）或同类型核酸提取仪中，并插入磁棒套；打开仪器的操作程序，调出对应程序，点击运行，开始提取。

4. 核酸转移

自动化程序结束后，将洗脱产物封口保存或转移至新的样品板中-20℃保存备用。

96 通道核酸提取仪器（QN-AUT-96）“Plasmid”程序各参数设置如下：

步骤	第 1 步	第 2 步	第 3 步	第 4 步	第 5 步	第 6 步
编号	1	3	4	5	6	5
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	2	2	2	2	2	2
混合时间	00:05:00	00:02:00	00:01:00	00:01:00	00:05:00	00:00:30
是否暂停	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:01:00	00:00:00
体积	1000 μL	600 μL	600 μL	600 μL	100 μL	600 μL
温度					55℃	

注意事项：

1. 使用前，将 RNaseA 全部加入 Buffer1 中混匀，2-8℃保存（若储存时间超过 6 个月需补加 RNaseA，所需 RNase 浓度为 10mg/mL，混合比例 Buffer1：RNaseA 为 100:1）；
2. 使用前，检查 Buffer2、Buffer3 是否出现盐析现象；若有，可在 37℃ 条件下重新溶解。