

产品组分

组分名称	组分编号	规格		保存条件
		100	RXN	
Mag Buffer P1	RM30312	22 mL		RT
Mag Buffer P2	RM30313	22 mL		RT
Mag Buffer P3	RM30314	22 mL		RT
Mag Buffer BD	RM30315	35 mL		RT
Mag Buffer WE1 & Beads	RM30316	65 mL		RT
Mag Buffer WE2	RM30317	22 mL		RT
Mag Buffer WE3	RM30561	65 mL		RT
Mag Buffer EC	RM30318	20 mL		RT
RNase A (10 mg/mL)	RM30304	1.2 mL		-20°C

产品说明

本试剂盒是基于生物纳米磁珠的核酸提取试剂盒，主要适用于从细菌质粒中分离纯化高质量的质粒 DNA。主要原理是利用功能性生物磁珠表面的功能基团，将核酸从样品裂解产物中富集至磁珠表面，再利用磁性分离装置对磁珠进行分离，从而快速分离纯化核酸。本试剂盒具有高效、快速、方便之特点，匹配全自动核酸提取仪，96 例样本提取操作仅需 25 分钟左右便可完成。而且本试剂盒提取的质粒 DNA 纯度高、片段完整，可以直接用于转化、PCR 扩增、测序、连接以及转染常规传代细胞等分子生物学实验。

保存温度

RNase A 置于 -20°C 冻存，试剂盒其他组分置于室温 (10 ~ 30°C) 保存，有效期一年。

Mag Buffer P1 加入 RNase A 后需 2 ~ 8°C 保存，尽快在 3 个月内使用完。

适用样本

适用于 1-5 mL 过夜培养的菌液提取。

注意事项

- 操作注意安全防护：样本提取应在规定的实验场所进行，穿戴防护衣物、一次性手套和口罩；有直接接触过样本的物品应进行消毒后丢弃或再次使用。
- 除非另有说明，所有的操作均在室温 (10-30°C) 完成。
- 实验前应对自动核酸提取仪进行紫外线消毒，并用 75% 乙醇定期清理实验台和样本提取专用移液器。
- 接触试剂的材料均要求干燥、洁净，以防止污染。
- Mag Buffer P2 可能会有沉淀析出，属正常现象，将其置于 42°C 烘箱或水浴中，待沉淀溶解后混匀再用。
- 手动提取时，如果所提质粒为低拷贝质粒或大于 10 kB 的大质粒，应加大菌体使用量，使用 5-10 mL 过夜培养物，同时按照比例增加 Mag Buffer P1、Mag Buffer P2、Mag Buffer P3 的用量，吸附和洗脱时可以适当的延长时间，以增加提取效率。
- 手动提取时，磁珠干燥放置时间不宜过长，过度干燥会影响提取结果。

自动提取

1. 打开仪器电源，待仪器完成自检后，按对应的仪器型号设置程序参数。

表 1. S-96 全自动核酸提取程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七
工位	2	1	2	3	4	6	2
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合时间	00:00:30	00:05:00	00:04:00	00:02:00	00:01:00	00:05:00	00:01:00
混合速度	5	5	5	5	5	2	5
吸磁时间	00:01:00	00:00:40	00:00:40	00:00:40	00:00:40	00:01:00	00:00:00
裂解温度：25℃			洗脱温度：65℃				4℃保存

表 2. S-48/S-16 全自动核酸提取程序

步骤	一	二	三	四	五	六	七
工位	2	1	2	3	4	5	2
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	3	2	3	3	3	1	4
混合时间	00:00:30	00:05:00	00:04:00	00:02:00	00:01:00	00:05:00	00:01:00
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:00:40	00:00:40	00:00:40	00:00:40	00:01:00	00:00:00
体积	600 μ L	800 μ L	600 μ L	200 μ L	600 μ L	100 μ L	600 μ L
温度	--	25℃	--	--	--	65℃	--

表 3. N-96 全自动核酸提取仪

步骤	一	二	三	四	五	六	七
工位	2	1	2	3	4	6	2
等待时间	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:00:00	00:02:00	00:00:00
混合模式	3	2	3	3	3	1	4
混合时间	00:00:30	00:05:00	00:04:00	00:02:00	00:01:00	00:05:00	00:01:00
是否暂停	否	否	否	否	否	否	否
吸磁时间	00:01:00	00:00:40	00:00:40	00:00:40	00:00:40	00:01:00	00:00:00
体积	600 μ L	800 μ L	600 μ L	200 μ L	600 μ L	100 μ L	600 μ L
温度	--	25℃	--	--	--	65℃	--

2. 非预分装试剂请预先将各组分（使用前务必充分摇匀）按照下表进行分装并做好标记；预分装试剂使用前请先颠倒混匀数次使磁珠重悬，再轻甩孔板使溶液均集中到孔板底部，小心撕去封口铝膜，避免孔板振动，液体溅出。

表 4. 组分装量-分布表

组分	规格装量	96 RXN-工位	16 RXN-布板
Mag Buffer BD	300 μ L/孔	工位 1	1/7 列
Mag Buffer WE1 & Beads	600 μ L/孔	工位 2	2/8 列
Mag Buffer WE2	200 μ L/孔	工位 3	3/9 列
Mag Buffer WE3	600 μ L/孔	工位 4	4/10 列
Mag Buffer EC	100 μ L/孔	工位 6	5/11 列

3. 将 **RNase A (10 mg/mL)** 溶液全部加入到 **Mag Buffer P1** 中，混匀后，置于 2~8℃ 保存。

4. 取培养过夜的菌液 1-5 mL 置于 1.5 mL 离心管中，12,000 $\times$ rpm 离心 1 min，弃去上清。

5. 向上述离心管中加入 200 μL **Mag Buffer P1** (确认已加入 **RNase A**)，盖好盖子，充分振荡重悬菌体，保证无明显菌块的存在。
6. 加入 200 μL **Mag Buffer P2**，立即轻柔上下颠倒 6-8 次 (切勿剧烈振荡)，室温放置 2-4 min (3 mL 菌以上 4 min，其余 2 min)，使菌体充分裂解。此时溶液变成均一的紫色，且开盖后能看到明显的“拉丝”现象。
7. 加入 200 μL **Mag Buffer P3**，立即反复颠倒 6-8 次，使裂解好的菌液完全混匀，此时可以看到明显的白色絮状沉淀，且溶液颜色变为均一的黄色，室温放置 2-5 min (3 mL 菌以上 5 min，其余 2 min)，12,000 $\times$ rpm 离心 2 min 或直接 96 孔过滤板抽滤。
8. 离心或过滤完成后，转移全部上清液 (离心法大约 500 μL ，过滤法大约 450 μL) 至 **Mag Buffer BD** 深孔板的样孔中 (S-48/S-16 仪器，取上清转移至深孔板的第 1、7 列)，吸取时应尽量避免吸到沉淀。
9. 将 96 孔板放入仪器对应卡槽中，插入磁棒套，关闭舱门，开始运行程序。

注：若对质粒要求非常高，可以在上机之前向 Mag Buffer WE2 中加入 5 μL RNase A (10 mg/mL)。

10. 程序结束后，仪器会自动停止。洗脱液 **Mag Buffer EC** 对应的的深孔板内为提取的核酸样品 (S-48/S-16 仪器、深孔板第 5、11 列内为提取的核酸样品)，该样品可以直接用于下游实验。若要长时间保存，可以封装或转移至新的容器中，置于 -20°C 冰箱保存。

手动提取

1. 将 **RNase A (10 mg/mL)** 溶液全部加入到 **Mag Buffer P1** 中，混匀后，置于 2~8°C 保存。
2. 取培养过夜的菌液 1-5 mL 置于 1.5 mL 离心管中，12,000 × rpm 离心 1 min，弃去上清（如果菌液多于 1.5 mL，需要进行多次离心操作）。
3. 向上述离心管中加入 200 μL **Mag Buffer P1**（**确认已加入 RNase A**），并盖好盖子，充分振荡重悬菌体，保证无明显菌块的存在。
4. 加入 200 μL **Mag Buffer P2**，立即轻柔上下颠倒 6-8 次（切勿剧烈振荡），室温放置 2-4 min（3 mL 菌以上 4 min，其余 2 min），使菌体充分裂解。此时溶液变成均一的紫色，且开盖后能看到明显的“拉丝”现象。
5. 加入 200 μL **Mag Buffer P3** 后，立即反复颠倒 6-8 次，使裂解好的菌液完全混匀，此时可以看到明显的白色絮状沉淀，且溶液颜色变为均一的黄色，室温放置 2-5 min（3 mL 菌以上 5 min，其余 2 min），12,000 × rpm 离心 2 min 或者直接 96 孔过滤板抽滤。
6. 步骤 5 完成后，转移全部上清液（离心法大约 500 μL，过滤法大约 450 μL）到干净的离心管中，吸取时应尽量避免吸到沉淀；向每个样本管中加入 300 μL **Mag Buffer BD**。
7. 取 600 μL **Mag Buffer WE1 & Beads** 置于磁力架上，静置 1 min，转移上清至另一干净 EP 管中待用，将步骤 6 中全部液体转入磁珠中，振荡混匀后静置 5 min，期间振荡混匀 3 次。
8. 将离心管置于磁力架上，静置 1 min，期间反复颠倒磁力架 5~6 次，使可能残存在管盖上的磁珠被磁力架吸附住，小心用移液器吸去管盖和管中的液体。
9. 取下离心管，加入步骤 7 中待用液体，将离心管振荡混匀 4 min 后再置于磁力架上，静置 1 min，期间反复颠倒磁力架 5~6 次，磁珠完全吸附后，小心用移液器吸去管盖和管中液体。
10. 加入 200 μL **Mag Buffer WE2**，将离心管振荡混匀 2 min 后再置于磁力架上，静置 1 min，期间反复颠倒磁力架 5~6 次，磁珠完全吸附后，小心用移液器吸去管盖和管中液体。
注：若对质粒要求非常高，可以向 Mag Buffer WE2 中加入 5 μL RNase A (10 mg/mL)。
11. 加入 600 μL **Mag Buffer WE3**，将离心管振荡混匀 1 min 后再置于磁力架上，静置 1 min，期间反复颠倒磁力架 5~6 次，磁珠完全吸附后，小心用移液器吸去管盖和管中液体。
12. 打开管盖，室温干燥 3-5 min 至乙醇挥发完全（乙醇残留和过干均会影响下一步核酸洗脱效率）。
13. 取下离心管，加入 100 μL 洗脱液 **Mag Buffer EC**，振荡混匀使磁珠完全浸没在洗脱液中，再置于 65°C 孵育 5 min，期间振荡混匀 3 次。
14. 孵育结束后，将离心管置于磁力架上，静置 1 min，待磁珠完全吸附后，小心用移液器将液体转移至新的干净的离心管中（切勿将磁珠吸出），所得溶液即为核酸样品。
15. 该样品可以直接用于下游实验，若要长时间保存，请置于 -20°C 冰箱。