

YALEPIC[®] 磁珠法质粒 DNA 小量提取试剂盒

YALEPIC[®] MagEVO Plasmid DNA Mini Extraction Kit

产品货号: YM49003

产品保存及运输条件

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] MagEVO Plasmid DNA Mini Extraction Kit 采用具有独特分离作用的纳米磁珠和特制的缓冲液系统, 能有效地去除基因组 DNA、RNA、蛋白等杂质, 高效特异的纯化质粒 DNA。纯化得到的质粒 DNA 质量稳定、可靠, 下游应用范围广泛, 可进行定量 PCR、NGS、载体构建等实验, 适用于高通量工作站的自动化提取。

产品组分

序号	产品组分	YM49003 (96 T)
①	PA Buffer	30 ml
②	PB Buffer (Blue)	30 ml
③	ER Buffer	30 ml
④	IP Buffer	30 ml
⑤	Wash Buffer RB	35 ml
⑥	Nuclease-free ddH ₂ O	12 ml
⑦	RNase A (10 mg/ml)	300 μl
⑧	Magbeads VM	2 × 1 ml

适用范围

1 ~ 5 ml 过夜培养的菌液。

自备试剂及仪器

无水乙醇;核酸提取仪;96 深孔板;磁棒套;Nuclease-free 移液器吸头;Nuclease-free 1.5 ml/2.0ml 离心管; 高速离心机; 恒温混匀仪; 恒温水浴锅等。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施, 穿戴实验服、手套、口罩等。使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品, 试剂使用完后立即盖好瓶盖, 避免交叉污染的风险。
2. 首次使用前将 RNaseA 溶液全部加入 **PA Buffer** 中, 混匀后 2 ~ 8°C 保存时间 ≤ 6 个月。每次使用前放置室温恢复温度后使用。
3. 首次使用前向 **Wash Buffer RB** 中加入标签指定量的无水乙醇;
4. 使用前检查 **PB**、**ER Buffer** 是否出现结晶或沉淀, 如有沉淀, 可在 37°C 水浴 5 min。
5. 提取质粒的量和纯度与细菌培养浓度、菌株种类、质粒大小、质粒拷贝数等因素有关。

实验流程

一、手动操作步骤

1. 取 1 ~ 5 ml 过夜培养的菌液, 加入离心管 (自备) 中, 12,000 rpm 离心 1 min 收集细菌, 彻底吸弃残留上清。
2. 向离心管中加入 250 μ l **PA Buffer** (确认已加入 RNase A), 涡旋振荡器充分混匀, 悬浮细菌沉淀。(注: 若菌块未彻底混匀, 将会影响裂解效果, 导致提取量和纯度偏低)
3. 向离心管中加入 250 μ l **蓝色 PB Buffer**, 温和地上下颠倒混匀 8~10 次, 使菌体充分裂解, 形成蓝色透亮粘稠溶液, 指示完全裂解, 室温放置 3min, 不超过 5 min。(注: 不要剧烈振荡, 避免打断基因组 DNA, 造成污染。若溶液并未变得蓝色清亮, 可能是菌量过大, 裂解不彻底, 需减少菌体量)
4. 向离心管中加入 250 μ l **ER Buffer**, 立即温和上下颠倒混匀 10 ~ 12 次, 此时溶液由蓝色变成透明, 并出现白色絮状沉淀, 室温放置 5 min。13,000 rpm 离心 5 min, 得到**样本上清液**。
(注: ER Buffer 加入后应立即混匀, 避免产生局部沉淀)

二、核酸提取仪步骤

(根据选用仪器型号进行试剂分装及程序设定, 以下流程以 YALEPIC® Pure 32 通道全自动核酸提取仪为例进行步骤说明)

1. 按下表向 96 深孔板中加入试剂:

列 数	试 剂	体 积
第 1、7 列	IP Buffer	300 μ l
	样本上清液	约 550 μ l~600 μ l
第 2、8 列		
第 3、9 列	Wash Buffer RB (使用前检查是否加入无水乙醇)	750 μ l
第 4、10 列	Wash Buffer RB (使用前检查是否加入无水乙醇)	750 μ l
	Magbeads VM	20 μ l
第 5、11 列		
第 6、12 列	Nuclease-free ddH ₂ O	100 μ l

- 将加好样本的深孔板放入核酸提取仪中, 装上磁棒套, 确认磁棒套安装到位后, 即可启动程序 **YM49003 Plasmid Mini.ABC**。
- 程序结束后, 取出深孔板, 将第 6、12 列中的洗脱液转移至新的 1.5 ml Nuclease-free 离心管 (自备) 中, 如不立即进行下游实验, 可置于 -85 ~ -65°C 保存。

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断