

## 搭载MagBinder® Fit<sup>24</sup>核酸提取仪实现自动化小量及中量质粒提取



图1. MagBinder® Fit<sup>24</sup> 核酸提取仪

MagBinder® Fit<sup>24</sup> 是一种新型台式核酸提取仪，专为满足中低通量用户的需求而设计，可对 1 至 24 个小体积或大体积样品进行半自动化提取。该自动化核酸提取仪可提取 DNA 和 RNA 等不同核酸，能够处理多样化的样本和不同起始量的样本，并获得高质量结果。

### 让质粒提取变得简单

MagBinder® Fit<sup>24</sup>与基于磁珠法的核酸提取试剂盒如磁珠法无内毒素质粒小量提取试剂盒 (M1261) 和磁珠法无内毒素质粒中量提取试剂盒 (M1272) 结合使用，可为质粒提供可扩展的一站式提取解决方案，包括从小量到中量的处理。使用该核酸提取仪可处理在Luria-

-Bertani (LB) 培养基中≤50mL 细菌培养物，或在 Terrific Broth (TB) 培养基中≤10mL 细菌培养物。用户可选择不同规格的仪器耗材 5mL (PB07-5-200) 或 10mL (PB05-10-200) 试剂槽完成提取。磁珠法无内毒素质粒小量提取试剂盒和磁珠法无内毒素质粒中量提取试剂盒的试剂分布如图 2 所示。试剂盒采用改良的碱性裂解法制备出裂解液，然后使用磁珠 (Mag-Bind® Particles LC) 或离心法分离沉淀物，进行中量提取时也可以借助针筒过滤器替代离心去除沉淀。碱裂解和沉淀去除均为上机前步骤，裂解液被转移到试剂槽的 1 号孔中，随后在 MagBinder® Fit<sup>24</sup> 上进行结合-洗涤-洗脱步骤。洗脱出来的质粒 DNA 内毒素含量 < 0.1 EU/μg。质粒提取试剂盒详细信息及其规格见表 1。

### 质粒提取：小量提取

1.5ml LB、TB和2xYT培养基中提取质粒。对含有高拷贝质粒pGL4.51的大肠杆菌株DH5α使用2xYT或TB培养基中培养过夜，对含pGEM的DH5α使用LB培养基中培养过夜。使用磁珠法无内毒素质粒小量提取试剂盒在 MagBinder® Fit<sup>24</sup>上提取质粒DNA，并使用Thermo Scientific的NanoDrop™ 2000c分光光度计通过吸光度进行测定，仪器运行时间为65分钟。质粒DNA的产量和纯度见图3。结果显示，该试剂盒适用于各种不同初始培养条件的样品，如不同质粒类型、分子量、培养基以及初始培养体积。

表1.用于MagBinder® Fit<sup>24</sup>自动核酸提取仪的质粒试剂盒规格

| 试剂盒                    | 培养基体积              | 试剂槽规格                 | 去除杂质的方式                             | 洗脱体积                               | 全流程需时 |
|------------------------|--------------------|-----------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------|
| 磁珠法无内毒素质粒小量提取试剂盒 M1261 | ≤1.5mL LB/TB       | MB Fit24™ 适配试剂槽, 5mL  | 离心或Mag-Bind® Particles LC磁珠吸附       | 50-100 μL                          | 65 分钟 |
| 磁珠法无内毒素质粒中量提取试剂盒 M1272 | ≤5mL LB            | MB Fit24™ 适配试剂槽, 5mL  | 离心或Mag-Bind® Particles LC磁珠吸附或过滤注射器 | 100 μL                             | 70 分钟 |
| 磁珠法无内毒素质粒中量提取试剂盒 M1272 | ≤50mL LB 或 10mL TB | MB Fit24™ 适配试剂槽, 10mL |                                     | 500-1000 μL (对于 < 25 mL 菌液建议250μL) | 70 分钟 |

\* 全流程需时计算从菌体收集开始，包含前处理及上机时长。

5mL试剂槽加液分布  
用于小量提取 (≤1.5mL菌液)



10mL试剂槽加液分布  
用于中量提取 (≤50mL菌液)



| 序号  | 试剂成分                              | 无内毒素质粒小提<br>(M1261), ≤1.5mL 菌液               | 无内毒素质粒中提<br>(M1272), ≤5mL 菌液                 | 无内毒素质粒中提<br>(M1272), ≤50mL 菌液               |
|-----|-----------------------------------|--|--|---|
| 1   | IRD Buffer+Mag-Bind® Particles RQ | 500μL IRD Buffer+50μL Mag-Bind® Particles RQ | 2.5mL IRD Buffer+50μL Mag-Bind® Particles RQ | 5mL IRD Buffer+200μL Mag-Bind® Particles RQ |
| 2   | IRD Buffer                        | 500μL  | 1mL  | 1.25mL                                      |
| 3   | VHB Buffer                        | 700μL  | 1mL  | 1.25mL                                      |
| 4   | VHB Buffer                        | 700μL  | 1mL  | 1.25mL                                      |
| 5   | 70%乙醇                             | 700μL  | 1mL  | 1.25mL                                      |
| 6   | 空                                 | 空  | 空  | 空   |
| 7   | 空                                 | 空  | 空  | 空   |
| 洗脱孔 | 无内毒素水                             | 50-100 μL                                    | 100 μL                                       | 500-1000 μL                                 |

图 2. MagBINDER® Fit<sup>24</sup>用于磁珠法无内毒素质粒小量和中量提取试剂盒的加液位置、组分和试剂体积。

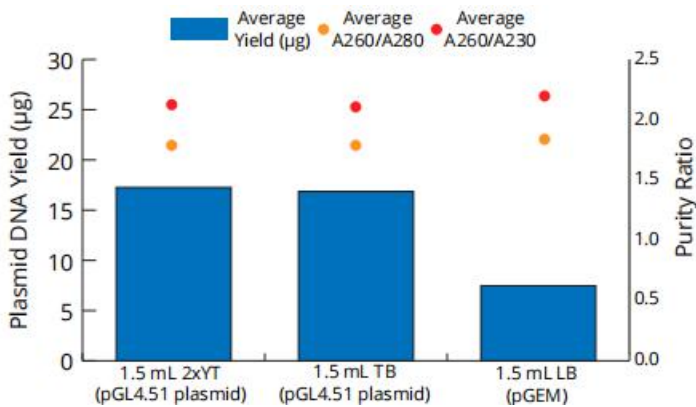


图3. 磁珠法无内毒素小量提取试剂盒在MagBINDER® Fit<sup>24</sup>上可处理各种初始条件的样品, 如不同质粒类型、分子量、培养基以及培养体积, 质粒产量可能因条件不同而存在差异。

pGEM质粒从1.5mL DH5α培养液 (n=3) 中纯化出来, 在MagBINDER® Fit<sup>24</sup>上使用磁珠法无内毒素质粒小量提取试剂盒和竞品公司的同类试剂盒按照说明书操作步骤提取。提取的质粒DNA使用 Thermo Scientific 的 NanoDrop™ 2000c分光光度计进行测定。与竞品公司对比, Omega Bio-tek试剂盒的质粒提取不仅不含内毒素 (<0.1EU/μg) 且能获得更高产量 (1.8倍) (表 2)。

表2. 与竞品公司相比, 质粒产量高约1.8倍

| 供应商   | 产量 (μg) | A260/A280 | A260/A230 | 内毒素含量 (EU/μg) |
|-------|---------|-----------|-----------|---------------|
| Omega | 7.0     | 1.84      | 1.98      | 0.02          |
| 竞品公司  | 3.9     | 1.84      | 1.98      | 0.14          |

### 转染的下游应用

编码荧光素酶基因的质粒pGL4.51, 使用Omega Bio-tek公司无内毒素质粒小量提取 (在MagBINDER® Fit<sup>24</sup>上运行), 和竞品公司的同类试剂盒进行对比, 按照说明书操作步骤。分别使用200ng质粒产物转染到10,000个细胞中 (使用2μL Lipofectamine转染试剂), 与使用竞品公司试剂盒提取的质粒相比, 由于Omega公司试剂盒提取的质粒不含内毒素 (<0.1EU/μg), 所以生物发光信号更高, 转染效率更高 (图4)。

与竞品公司相比 转染效率更高

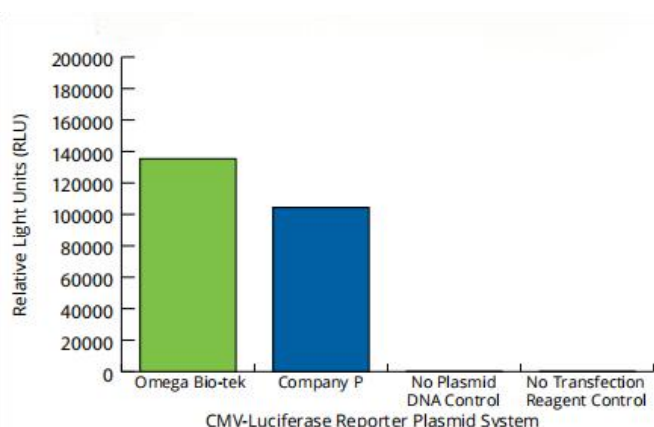


图4. 与竞品公司相比，使用Omega Bio-tek核酸提取方法的转染效率更高。

### 质粒提取：中量提取

在MagBinder® Fit<sup>24</sup>上用无内毒素质粒中量提取试剂盒，按照说明书操作步骤和竞品公司一起提取5mL DH5α培养液的pGEM和pGL4.51质粒（n=3）。使用Thermo Scientific的NanoDrop™ 2000c分光光度计对提取的质粒DNA进行测定。与竞品公司对比，Omega Bio-tek试剂盒的质粒提取不仅不含内毒素（<0.1EU/μg）且能获得更高的产量（表3）。

表3.与使用5ml菌液的竞品公司相比，质粒产量更高。

| 质粒类型              | 供应商   | 产量 (μg) | A260/A280 | A260/A230 | 内毒素 (EU/μg) |
|-------------------|-------|---------|-----------|-----------|-------------|
| pGEM (~3.3 kb)    | 竞品公司  | 9.0     | 1.9       | 2.4       | 0.651       |
|                   | Omega | 31.7    | 1.8       | 2.1       | <0.01       |
| pGL4.51 (~6.4 kb) | 竞品公司  | 10.2    | 1.9       | 2.3       | 未检出         |
|                   | Omega | 87.5    | 1.8       | 2.2       | 未检出         |

### 转染的下游应用

将200ng质粒pGL4.51转染到10,000个细胞中（使用2μL Lipofectamine转染试剂）。使用Omega Bio-tek试剂盒提取的质粒产生了更高的生物发光信号，表明与竞品公司对比，转染效率更高（图5）。

与竞品公司相比，转染效率更高

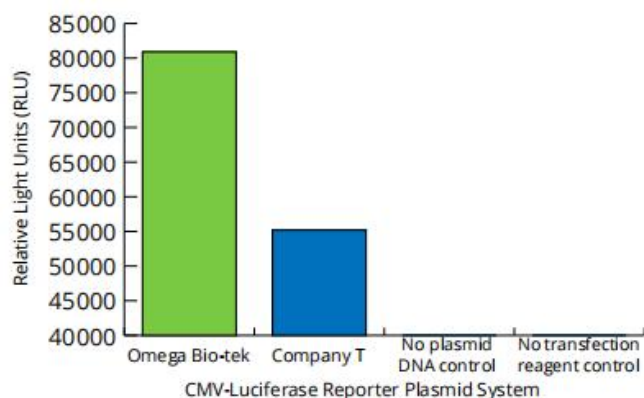


图5. 因使用Omega Bio-tek试剂盒进行质粒提取时不含内毒素（<0.1EU/μg），与竞品公司对比，使用Omega Bio-tek提取的质粒转染效率更高。

### 从50ml LB和10ml TB中提取质粒

在25mL、50mL LB或10mL TB培养基中过夜培养含pGEM的大肠杆菌株DH5α，采用三种不同去除沉淀物的方法（离心、Mag-Bind® Particles LC和注射器）。使用磁珠法无内毒素质粒中量提取试剂盒在MagBinder® Fit<sup>24</sup>上提取质粒DNA，全流程需时约70分钟，并使用Thermo Scientific的NanoDrop™ 2000c分光光度计对浓度进行测定。质粒DNA的产量和纯度见下图6，无论使用何种沉淀物去除方法，产量无明显差异。培养量从25mL增加至到50mL时，质粒产量翻倍，A260/A280≥1.8，A260/A230≥2.2。不管使用何种培养量或培养基，提取的质粒内毒素水平均<0.1 EU/μg。

## MagBinder® Fit24 可得到高浓度、高纯度产物

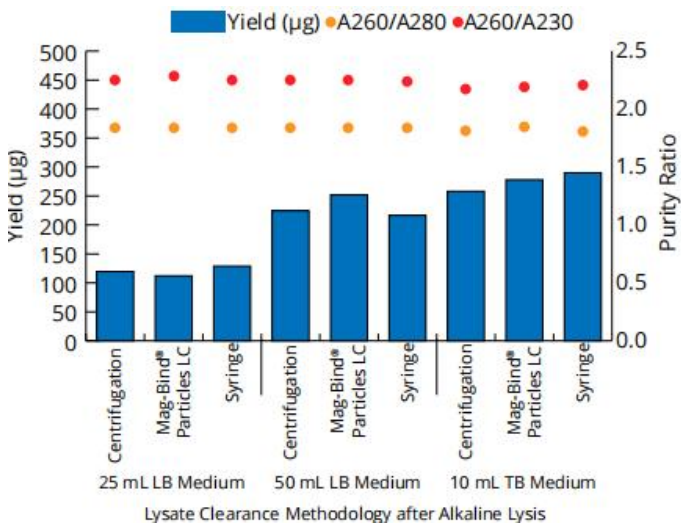


图 6. 使用磁珠法无内毒素质粒中量提取试剂盒在 MagBinder® Fit<sup>24</sup> 提取仪上按照三种不同的去除沉淀物的方法，从 25 mL 和 50 mL LB 以及 10 mL TB 培养基中提取 pGEM 质粒 (n=3)。无论使用何种沉淀物去除方法，产量无明显差异。

## 结论

Omega Bio-tek 磁珠质粒试剂盒和 MagBinder® Fit<sup>24</sup> 核酸提取仪的搭配使用可以提供全方位解决方案，包含从小提到中提等处理的质粒提取范围。提取后的质粒不含内毒素 (<0.1 EU/µg)，可用于从感受态细胞转染到常规筛选等多种对内毒素水平敏感的应用。

## 产品信息

| 产品                           | 货号                                 |
|------------------------------|------------------------------------|
| MagBinder® Fit <sup>24</sup> | B1-001-24                          |
| MB Fit24™ 试剂槽, 5mL           | PB07-5-200, 200 次                  |
| MB Fit24™ 试剂槽, 10mL          | PB05-10-200, 200 次                 |
| MB Fit24™ 磁棒套                | PB12-0-72                          |
| 仪器配套洗脱管 (2mL)                | PB01-2-500                         |
| 磁珠法无内毒素质粒小量提取试剂盒             | M1261-00 (1×96)<br>M1261-01 (4×96) |
| 磁珠法无内毒素质粒中量提取试剂盒             | M1272-00 (1×96)<br>M1272-01 (4×96) |
| Mag-Bind® Particles LC       | MBPLC-50                           |
| 中量过滤针筒                       | PD093                              |