

磁珠法质粒 DNA 小量提取试剂盒

目录号: BS010100 (100 preps)

保存条件: 室温 (15-30°C), 干燥条件下, 可保存 12 个月。(RNase 需 2-8°C 保存)

产品内容

BS010100	
Component	100 preps
Buffer S1	28 ml
Buffer S2	28 ml
Buffer S3	40 ml
RnaseA	180 ul
Magbeads	5.5 ml
Buffer WN	34 ml
Buffer WS	2*18 ml

产品简介

该试剂盒提供了一种简单、快速、高效的用于质粒 DNA 提取的方法, 提取效率比柱式更高。菌体经 buffer 裂解后释放的质粒 DNA 可直接被磁珠特异性吸附。经漂洗后, 洗脱得到的纯净的质粒 DNA, 可用于测序、酶切、PCR、克隆等下游实验。该试剂盒可与液体工作站或磁棒法自动磁珠提取系统配套使用, 简单、快速地进行大规模提取, 大大降低了实验者的工作量和实验中的人为误差。

自备仪器、试剂

- 1) 漩涡仪, 水平振荡仪, 离心机
- 2) 磁力架
- 3) 无水乙醇、异丙醇

实验前准备

1. 电泳时最好使用新的电泳缓冲液, 以免影响电泳和回收效果。
2. 实验前将 RnaseA 全部加入 Buffer S1, 充分溶解后 2-8°C 保存。
3. 当温度较低时 Buffer S2 可能出现白色沉淀, 50°C 水浴几分钟即可溶解, Buffer S2 为粉红色, 便于检测裂解即中和反应时的 PH 变化。
4. Magbeads 每次使用前需涡旋震荡 20 秒使其充分混匀。

4. Buffer WN 首次使用前需加入 20ml 无水乙醇溶液混合后备用。
5. Buffer WS 首次使用前每瓶需加入 72ml 无水乙醇溶液混合后备用。

离心管法操作步骤

1. 取 1.5-2ml 培养好的新鲜菌液放入 2ml 离心管中，12000rpm 离心 2-5 分钟收集菌体，弃去上清液。
2. 加入 250ul 溶液 S1，涡旋振荡或者用移液器枪头吹打充分悬浮菌体，充分混合后溶液为乳白色。
3. 加入 250ul 溶液 S2，缓慢轻微翻转离心管混合 2 次。
4. 加入 350ul 溶液 S3，翻转离心管混合 4-5 次，溶液会由粉红色变为淡黄色并形成絮状凝聚物，然后 12000rpm 离心 10 分钟。
5. 将步骤 4 中的上清液转移到另外一个新的 1.5ml 或 2.0ml 离心管中，每管中加入混匀的 50ul 的 Magbeads，涡旋震荡 15 秒钟，室温静置 1 分钟。
6. 将离心管置于磁力架上吸附 30 秒钟，待磁珠全部吸附到管壁后，弃去清液。
7. 取出磁条，每管加入 500 μ l Buffer WN，混匀几次，重新插入磁条静置 30 秒钟，待磁珠全部吸附到管壁后，弃去清液。
**需确认 Buffer WN 中已按要求加入规定体积的无水乙醇。*
8. 取出磁条，每管加入 700 μ l Buffer WS，颠倒混匀几次，重新插入磁条静置 30 秒钟，待磁珠全部吸附到管壁后，弃去清液。重复本步骤一次。
**需确认 Buffer WS 中已按要求加入规定体积的无水乙醇。*
9. 保持离心管固定于磁力架上，用移液器去除离心管管底和管盖上的溶液，之后 70°C 烘箱放置 1 分钟，取出室温静置 5 分钟，当磁珠表面没有光泽时说明乙醇挥发干净。
(注意：如果没有烘箱可短暂离心将残液收集到离心管底部，再将离心管固定于磁力架上彻底弃去残液)
10. 取出磁条，每管加入 30-100 μ l 去离子水，吹打混匀静置 2 分钟，（放于 50°C 水浴锅中孵育 1 分钟，可提高洗脱效率）。
11. 插入磁条静置 1-2 分钟，待 Magbeads 完全吸附于离心管侧壁后，用移液器将洗脱液转移至新的离心管中 -20°C 保存备用。

48 孔板/96 孔板法操作步骤

1. 取培养了 1-2ml 菌液的 48 孔板或 96 孔板，至于离心机中，3700rpm 离心 2-5 分钟收集菌体，弃去上清。
2. 加入 250ul 溶液 S1，涡旋振荡或者用移液器枪头吹打充分悬浮菌体。
3. 加入 250ul 溶液 S2，轻微摇动样品板混合均匀，静置约 30 秒。
4. 加入 350ul 溶液 S3，水平振荡均匀 30 秒，溶液会由粉红色变为淡黄色并形成絮状凝聚物，然后 3700rpm 离心 10 分钟。
5. 将步骤 4 中的上清液转移 500-600ul 到另外一个新的 96 孔深孔板中，每孔加入 50ul 的 Magbeads，水平振荡 2 分钟，取下放置在提取磁力架上，吸附 30 秒，磁珠会吸附到底部，直接倒转弃上清液，置于吸水纸上静置 10 秒。
6. 取下 96 孔板，每孔加入 500 μ l Buffer WN，振荡混匀后再放回提取磁力架上，吸附后弃上清。
**需确认 Buffer WN 中已按要求加入规定体积的无水乙醇。*
7. 取下 96 孔板每孔加入 500ul Buffer WS，振荡混匀后再放回提取磁力架上，吸附后弃上清；重复本步骤一次。
**需确认 Buffer WS 中已按要求加入规定体积的无水乙醇。*
8. 垫吸水纸连同磁力架颠倒放入离心机，300rpm 离心 30 秒。
9. 取下 96 孔板，放入 70 度烘箱 1 分钟，取出室温静置 2 分钟，
10. 每孔加入 30-100 μ l 去离子水或 TE Buffer，振荡混匀 1 分钟，将 96 孔板置于磁力架上吸附 1 分钟。
11. 待 Magbeads 完全吸附于板底后，用移液器将洗脱液转移至新的 96 孔板或离心管中备用。