

质粒小提试剂盒（磁珠法）

HX3035

产品简介

质粒小提试剂盒（磁珠法）是一种使用新型核酸纯化介质包被的磁珠，用于稳定、高效、便捷地从大肠杆菌中抽提少量质粒的试剂盒。抽提所得的质粒可直接用于细胞转染、DNA 测序、PCR、基于 PCR 的突变、体外转录、转化细菌、内切酶消化等实验。本试剂盒利用碱裂解法使质粒充分释放，再与磁珠特异性结合，在外界磁场（如磁分离架）的作用下，磁珠与相应溶液可以快速而高效地分离，经洗涤充分去除杂质，最后用洗脱液将质粒从磁珠上洗脱下来，即可获得高质量的质粒样品。具有抽提效果稳定、纯度高、操作灵活便捷等优点。质粒抽提体系经过反复测试和优化，能从 2-3 ml 过夜培养的大肠杆菌中抽提得到约 10-15 μg 高拷贝质粒，最快约 20 min 内即可完成质粒抽提。按照标准的操作步骤，适用于 1-5 ml 过夜培养菌液的质粒抽提。由于磁珠的使用量可灵活调节，如进行中量质粒的提取，只需将抽提体系按比例放大即可，例如放大 1 倍。磁珠法条件温和，整个操作步骤无需繁琐的反复离心或抽滤操作，以简单的磁铁吸附所代替，确保了操作的快速和便捷，和传统的抽提方法相比，操作过程中不涉及酚/氯仿等有毒试剂。

产品应用

使用新型核酸纯化介质包被的磁珠，用于稳定、高效、便捷地从大肠杆菌中抽提少量质粒，抽提所得的质粒可直接用于细胞转染、DNA 测序、PCR、基于 PCR 的突变、体外转录、转化细菌、内切酶消化等实验。

储存条件

RNase A -20°C 保存，其他组份室温保存，一年有效。Buffer Beads 长期不使用时，4°C 保存，可以保存更长时间。

产品信息

组分编号	组分名称	规格	规格	规格
		50 T	200 T	1000 T
HX3035-1	Buffer Beads (磁珠悬浮液)	2.5 ml	10 ml	10 ml×5
HX3035-2	Buffer S1 (悬浮液)	10 ml	40 ml	40 ml×5
HX3035-3	Buffer P1 (裂解液)	10 ml	40 ml	40 ml×5
HX3035-4	Buffer P2 (结合液)	10 ml	40 ml	40 ml×5

HX3035-5	Buffer WB (洗涤液, 首次使用前需加入 45 ml/75 ml×2/75 ml×10 无水乙醇)	30 ml	50 ml×2	50 ml×10
HX3035-6	Buffer EB (洗脱液)	5 ml	20 ml	20 ml×5
HX3035-7	RNase A (100 mg/ml)	10 μl	40 μl	40 μl×5

注意事项

1. 需自备无水乙醇和磁分离装置。磁珠在静置后会沉降，使用前一定要适当涡旋震荡或颠倒数次至充分混匀。磁分离前应适度震荡离心管使磁珠充分分散后再靠近磁场。如果出现磁珠挂壁现象，可以在磁珠聚集后晃动管内液体，使挂壁的磁珠流下。请使用推荐的菌液量。如果菌液量过大，可能造成磁珠聚集，会影响洗涤进而影响抽提获得的质粒纯度。发生磁珠聚集时，洗涤时需尽量分散磁珠，这样可有效改善抽提效果。如果发生磁珠聚集现象，建议在后续实验中适当减少菌液用量。
2. 温度较低时，Buffer P1 与 Buffer P2 可能会有沉淀产生。使用前必须检查一遍。如有沉淀，可置于 37°C 水浴加热溶解，混匀后使用。Buffer P1 请勿过分剧烈混匀，否则会产生大量气泡，使用完毕后，一定要盖紧瓶盖，防止被空气中二氧化碳酸化。Buffer P1、Buffer P2 及 Buffer WB 对人体有刺激性，操作时请小心，并注意适当防护。
3. 本产品适用于手工抽提，也可用于工作站或核酸自动提取仪。抽提获得的质粒量会受质粒拷贝数等因素影响。抽提获得的质粒 DNA 的 OD 值也会因菌种不同等原因而略有波动。
4. **首次使用前把试剂盒提供的 RNase A 全部加到 Buffer S1 中，混匀，并在瓶上做好标记。加入 RNase A 后 4°C 存放。**
5. **首次使用前 Buffer WB 需添加 45 ml/75 ml×2/75 ml×10 无水乙醇，混匀，并在瓶上做好标记。**
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品，不得存放于普通住宅内。为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

使用说明

1. 取 1.5 ml 过夜培养大肠杆菌，5000×g 离心 1 min 收集细菌沉淀，弃上清。再重复一次，每管共收集 3 ml 菌液的沉淀。

注：通常大肠杆菌宜用 LB 培养过夜（16 h 左右）至 OD 值为 2-4。建议 5000×g（通常为 5000 rpm 左右）室温离心 1 min，如沉淀不充分可以适当延长离心时间。时间过长或离心速度过快会使沉淀过于紧密，不利于加入悬浮液后散开沉淀。直接倒掉上清，然后倒置于吸水纸上（可用普通草纸），使液体流尽。如果细菌密度明显偏低，可考虑使用更多菌液，例如 2 次离心后再加入 1.5 ml 菌液重复收集 1 次。对于高拷贝质粒所用菌量一般不宜超过 3 ml，对于低拷贝质粒所用菌量一般不宜超过 5 ml。过量的细菌会导致后续的裂

解不充分。如果需要的质粒量比较少，也可以仅离心收集 1.5 ml 菌液。

2. 每管加入 200 μ l Buffer S1 重悬细菌沉淀。确保沉淀完全散开，无可见细菌团块。

注：确保 Buffer S1 中已经添加 RNase A。涡旋震荡使菌体完全分散。对着光亮处观察应呈均匀的悬浊液，无明显细菌团块或絮块。也可以用移液枪吹打使沉淀逐渐散开或用手指把沉淀弹开。

3. 每管加入 200 μ l Buffer P1，轻轻颠倒离心管 4-6 次，使细菌完全裂解，溶液透明。

注：切勿涡旋震荡！剧烈操作会导致基因组 DNA 断裂，使最终所得质粒被基因组 DNA 污染。颠倒 4-6 次后，溶液应变得透明，无团块或絮状物。如果步骤 2 中加入 Buffer S1 后细菌没有完全散开，颠倒 4-6 次后可能还会有团块或絮状物。遇到有少量团块或絮状物产生的情况，可以增加颠倒次数 3-5 次，再室温放置 2-3 min，但总裂解时间不可超过 5 min。

4. 每管加入 200 μ l Buffer P2，随即颠倒离心管 4-6 次混匀，可见白色絮状物产生。最高速（13,000 rpm 左右）室温离心 10 min。

注：切勿涡旋震荡！颠倒次数也不宜过多，否则易导致最终所得质粒的质量下降。如果对于质粒的纯度要求不高，可以把离心时间缩短为 3-5 min，确保上清和沉淀适当分开即可。

5. 将离心后的上清吸入或倒入新的 1.5 ml 离心管内，加入 50 μ l Buffer Beads（使用前务必混匀），轻柔混匀后，室温放置 3-5 min。将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸除残液。

注：磁珠在使用前一定要涡旋或震荡混匀。如有必要，可适当增加磁珠用量，延长结合时间以提高得率。

6. 加入 750 μ l Buffer WB，轻柔震荡使磁珠分散开，颠倒两次后将离心管置于磁力架的磁场中，待磁珠完全聚集后，尽量吸净残液。

注：如果离心管内盖有磁珠，可按住离心管整体上下颠倒两次，使磁珠被完全吸附，然后弃去上清。

7. 加入 450 μ l Buffer WB，重复 6 的操作，最终尽量吸净残留液体。

8. 将离心管置于 37°C 鼓风烘箱 5 min，或室温放置 5-10 min，确保残留的乙醇等微量液体完全挥发。

9. 加入 50-100 μ l Buffer EB，轻柔震荡使磁珠悬于溶液中，室温孵育 3-5 min，其间甩动离心管 1-2 次。将离心管置于磁场中，待磁珠完全聚集后，小心吸取溶液至新离心管中，置于 -20°C 保存。所得溶液即为抽提获得的高纯度质粒。

注：为提高样品浓度，也可适当减少 Buffer EB 用量至 50 μ l，约 50-55°C 洗脱比室温洗脱效率略高。