

## ABC® 磁珠法高纯度质粒 DNA 大量提取试剂盒

目录号: ABC3628

### 产品信息

产品名称	产品编号	规格
磁珠法高纯度质粒 DNA 大量提取试剂盒	ABC3628-10T	10T

### 产品简介

本试剂盒利用超顺磁性磁珠可逆的结合核酸的特性以及特有的缓冲体系, 可快速、高效的从 100 mL 过夜培养的菌液中获得 600-1500 µg 高纯度质粒 DNA, 使用本试剂盒提取的质粒 DNA 可用于酶切反应、连接反应、PCR 扩增、测序等分子生物学实验。

### 储存与运输

RNase A 冰袋 (wet ice) 运输, -20°C 保存; 其他试剂室温运输, 室温储存; 有效期 12 个月。

### 组成

Component Number	Component	ABC3628-10T
ABC3628-1	Buffer SP1	90 mL
ABC3628-2	Buffer SP2	90 mL
ABC3628-3	Buffer SP3	90 mL
ABC3628-4	RNase A	180 µL
ABC3628-5	Buffer SPD	110 mL
ABC3628-6	Buffer PW	33 mL
ABC3628-7	Buffer TE	30 mL
ABC3628-8	SweMag Beads	7 mL
说明书		1 份

### 使用前准备

1. 自备磁力架。
2. 使用前先将试剂盒中提供的 RNase A 全部加入 Buffer SP1 中, 可于 4°C 保存 6 个月。
3. SP2 使用后, 应立即盖紧盖子, 避免试剂长时间与空气接触。
4. SP3 使用前请于 4°C 预冷。
5. 使用前请向 Buffer PW 中加入 77 mL 的无水乙醇。

### 实验步骤

1. 取 100 mL 过夜培养菌液 (对于低拷贝质粒建议取 200 mL 过夜培养菌液), 10,000 rpm (~11,500×g) 室温离心 3 min 收集菌体于 50 mL 离心管中 (尽量将上清全部去除);
2. 加入 8 mL SP1 (请先检查是否加入 RNase A) 使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮菌体 (务必使菌体彻底分散, 否则会影响裂解, 导致提取质粒的质量和纯度偏低);
3. 加入 8 mL SP2 立即温和的上下颠倒 8-10 次使菌体充分裂解 (此步不可剧烈震荡, 并且应保证在 5 min 以内完成), 此时溶液应变得清亮粘稠, 如果未变得清亮可能是菌体过多, 再重新颠倒几次直到溶液透明;
4. 加入 8 mL SP3 (提前 4°C 预冷) 立即温和的上下颠倒 10-12 次, 溶液出现紧实凝集块, 冰上放置 5 min, 10,000 rpm 4°C 离心 20 min, 取上清于一 Nuclease-free 的 50 mL 离心管 (客户自备) 中;
5. 加入 10 mL SPD, 15 mL 无水乙醇上下颠倒混匀, 随后再加入 600 µL SweMag Beads (用之前涡旋至磁珠分散均匀) 上下颠倒至磁珠分散均匀, 室温放置 30 min, 期间每隔 3-5 min 颠倒混匀一次;

6. 将 50 mL 离心管置于磁力架上静置 2 min 后，将离心管随磁力架温和地上下颠倒数次，使残留在管盖上的磁珠冲洗下去，继续静置，直到液体澄清，弃掉液体；
7. 将离心管从磁力架上取下，加入 5 mL SPW（检查是否加入无水乙醇），轻轻上下颠倒，使磁珠分散均匀，再将离心管置于磁力架上，将离心管随磁力架温和地上下颠倒数次，使残留在管盖上的磁珠冲洗下去，继续静置，直到液体澄清，弃掉液体；
8. 重复第 7 步；
9. 将离心管盖打开，室温放置 5–10 min 或 65°C 放置 3–5 min，使乙醇完全挥发（避免磁珠过度干燥，以免影响核酸得率）；
10. 移去磁力架，加入 1–3 mL buffer TE 或 Nuclease-free Water，用移液器轻轻吹打至磁珠分散均匀，室温放置 3–5 min；
11. 将离心管重新放置于磁力架上，待磁珠完全吸附，取上清于一 Nuclease-free 的离心管中，即得到高浓度与高纯度质粒 DNA；
12. 得到的质粒 DNA 于 -20°C 保存备用。

### 注意事项

1. 操作之前，请务必认真阅读本产品说明书。
2. 磁珠悬液在保存过程中应避免冷冻。
3. 磁珠易沉淀，使用前应摇匀或涡旋混匀。
4. 洗脱质粒前应使乙醇完全挥发，避免残留的乙醇影响下游实验。
5. 请勿长时间干燥磁珠，以免影响 DNA 洗脱效率。
6. 质粒 DNA 若要长期保存，建议用 Buffer TE 洗脱。
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

**本产品仅供科研用途，不用于临床诊断！**