



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

质粒小量提取试剂盒（磁珠法）

货号: R33168

规格: 50T, 100T

保存温度: 2-8℃保存, 有效期 12 个月。

产品内容:

试剂盒组成	50T	100T	储存温度
RNaseA	200μL	400μL	-20℃
溶液 I	6mL	12mL	2-8℃
溶液 II	12mL	24mL	RT
溶液 III	8mL	16mL	RT
漂洗液	20mL	20mL×2	RT
洗脱液	15mL	30mL	RT
羟基磁珠	750μL	1.5mL	2-8℃, 切勿冷冻
说明书	1 份	1 份	-

注意: 使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶体上的标签。

产品简介:

试剂盒采用磁珠法来提取质粒 DNA, 磁珠表面特殊的化学基团能够与 DNA 进行特异性吸附, 能够提取到高质量的质粒 DNA, 而且操作简单。使用本试剂盒提取的基因组 DNA 可适用于各种常规的分子生物学实验, 包括酶切、PCR、测序、连接和转化等试验。本试剂盒无需使用有毒试剂, 操作安全。

操作步骤:

1. 取 1-5mL 的细菌培养物, 12000rpm 离心 1min, 尽量吸除上清 (菌液较多时可以多次离心将菌体收集到同一个离心管中)。

2. 向留有菌体沉淀的离心管中加入 100μL 溶液 I 和 4μL RNase A (100mg/mL), 使用移液枪或涡旋震荡器彻底悬浮菌体沉淀 (若沉淀未彻底悬浮混匀,



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

会降低提取的效果), 室温放置 5-10min。可按照溶液 I 需要量, 现象溶液中加入相应体积的 RNA 酶。(建议现用现配)。

3.向离心管中加入 200 μ L 溶液 II, 温和地上下颠倒 6-8 次使菌体裂解。

4.向离心管中加入 150 μ L 溶液 III, 立即温和地上下颠倒 6-8 次充分混匀, 此时会出现白色絮状沉淀, 12000 rpm 室温离心 10min, 用移液枪将上清转移到另一个新的离心管中, 尽量不要吸出沉淀。

5.在上一步所得的上清中加入等体积的无水乙醇和 15 μ L 磁珠(磁珠使用前需涡旋震荡混匀), 混匀后静置 10min, 期间每隔 2-3min 混匀一次(或用混匀仪混匀 10min)。

6.将离心管放在磁力架上, 待溶液澄清后, 吸去上清液, 注意不要洗到磁珠。

7.向离心管中加入 600 μ L 漂洗液(使用前请确认是否已加入无水乙醇), 涡旋震荡混匀后立即放于磁力架上吸附, 待磁珠聚集液体澄清后将液体吸出。

8.重复操作步骤 7。

9.将离心管置于磁力架上开盖放置 5min, 以除去多余的乙醇, 静置期间如果离心管底部有多余的液体, 用移液枪将其吸出。

9.将离心管放在普通离心管架上, 向离心管中加入 50-200 μ L 经 65 $^{\circ}$ C 预热的洗脱液, 用移液枪将磁珠与洗脱液吹吸混匀, 室温放置 5min, 之后放于磁力架上吸附, 待磁珠聚集液体澄清后将液体吸到干净的离心管中, 该液体即为提取的质粒。

注意事项:

1.在提取质粒过程中若想提高高浓度的质粒可适当增加菌体使用量。

2.使用前请先检查溶液 II 和溶液 III 是否出现浑浊, 如有浑浊现象, 可在 37 $^{\circ}$ C 水浴中加热几分钟, 待溶液澄清后再使用。溶液 II、溶液 III 和漂洗液使用完应立即拧紧盖子。

3.洗脱液的体积不应少于 50 μ L, 体积过少会影响提取效率, 而且洗脱液的 pH 值也会影响洗脱效率, 如果需要用水洗脱, 应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用



上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co., Ltd
电话: 021-61312973 传真: 021-55068248
网址: www.shyuanye.com
邮箱: shyysw@sina.com

NaOH 将水的 pH 值调至此范围), pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率; DNA 产物应保存在-20℃, 以防 DNA 降解。

4.DNA 浓度及纯度检测: 提取的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度, DNA 应在 OD260 处有显著吸收峰, OD260 值为 1 相当于大约 50 µg/mL 双链 DNA、40 µg/mL 单链 DNA。OD260/OD280 比值应为 1.7-1.9, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用去离子水, 比值会偏低, 因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

