

Magnetic Bead-based Endo-Free Plasmid Kit

无内毒素磁珠法质粒提取试剂盒

■ 目录号

TSN0404-200

■ 产品简介

本产品采用高结合力的超顺磁性纳米材料作为基质，配合改良 SDS 碱裂解法，可快速从菌体中提取高质量的质粒 DNA。并通过内毒素清除试剂去除质粒中的内毒素，质粒中内毒素含量可低于 0.1 EU/μg。适用于从 1-4mL 细菌培养液中提取多至 20 μg 高纯度的质粒 DNA，可直接用于转染、转化、DNA 测序、PCR 和酶切等分子生物学实验。

■ 产品组成

组分	200 T	保存条件及稳定性
RNase A (10 mg/mL)	600 μL	-15~-25℃保存一年
Buffer PA	60 mL	
Buffer PB	60 mL	
Buffer PC	40 mL	
异丙醇	30 mL	
Buffer ERX	100 mL	15~25℃保存一年
Buffer PWA	250 mL	
Buffer PWB	250 mL	
Eluent	25 mL	
磁珠	4 mL	

■ 保存条件

Buffer PA加入RNase A后置于 2~8 °C 保存，其他试剂常温(15-25℃)保存，保质期 1 年。

■ 注意事项

1. 第一次使用前，将 RNase A 全部加入至 Buffer PA 中，混合均匀后置于 2~8 °C 保存。
2. 环境温度低时，Buffer PB 中的 SDS 可能出现浑浊或析出沉淀，将其 37 °C 水浴加热几分钟即可恢复澄清，请勿剧烈摇晃，以免形成泡沫。
3. 磁珠长期静置后易出现沉降，使用前应震荡或涡旋 1 min 使其保持完全均一的悬浮状态。
4. 请勿直接接触 Buffer PB、Buffer PC、Buffer PWA，操作时请带好眼镜、乳胶手套和口罩，若沾染皮肤、眼睛应立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时及时就医。
5. 各溶液使用后请及时将盖子拧紧。
6. 实验前准备

设备：小型台式离心机、移液器、水浴锅或金属浴、涡旋振荡器、磁力架。

■ 操作步骤

1. 取 1-4 mL 过夜培养的菌液，12000 rpm (13400 × g) 离心 1 min，收集菌体，尽量吸除上清液。
2. 加 200 μL Buffer PA (请先检查是否已加入 RNase A) 重悬菌体沉淀，涡旋振荡至无明显菌块为止；

注：若菌体沉淀未彻底悬浮均匀会影响裂解效果，导致提取得率和纯度偏低。

3. 加 250 μL Buffer PB，温和地上下翻转 5~10 次，使菌体充分裂解，裂解时间 2 min；
注：此步需要温和翻转，不能剧烈震荡，以免打断基因组 DNA，使提取的质粒中含有基因组 DNA 片段。混合后菌体应变得清亮粘稠，若未变得清亮，可能是由于菌体量过多，裂解不充分导致，应减少菌体量。
4. 加 150 μL Buffer PC，温和地上下翻转 5~10 次，充分混匀，12000 rpm (13400 × g) 离心 10 min；
5. 小心吸取 400 μL 上清转入新的离心管中，加入 400 μL Buffer ERX，旋涡震荡混匀 5 min；
6. 加入 135 μL 异丙醇，再加入 20 μL 磁珠，扣上离心管盖，涡旋混合均匀，室温静置 5 min，期间颠倒混匀 3~5 次；

(注：如果有适配离心管的振荡器或旋转仪，可以放在仪器上持续振荡或旋转 5 min，促进核酸吸附。)

7. 将离心管置于磁力架上磁吸 30s，磁吸完成之后，打开离心管盖，弃上清液；
8. 将离心管从磁力架上取下，加入 600 μL Buffer PWA 洗涤，高转速涡旋 30 s，再放置于磁力架上磁吸 30 s，弃上清；
9. 重复步骤 8 一次；
10. 将离心管从磁力架上取下，加入 600 μL Buffer PWB 洗涤 (请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇)，高转速涡旋 30 s，再放置于磁力架上磁吸 30 s，弃上清；
11. 重复步骤 10 一次；
12. 室温静置 10 min 至管内残余乙醇挥发干净。

13. 离心管中加入 70-100 μL Eluent (Eluent 提前 65°C 预热洗脱效果更好)，65°C 振荡混匀 5 min，放置于磁力架中磁吸 1 min，吸取上清至新的离心管，即获得纯的质粒 DNA。
- 注：洗脱体积越大，DNA 得率越高，如果需要得到较高浓度的 DNA，可以适当减少洗脱体积，但最少体积不应少于 50 μL ，体积过小会降低 DNA 洗脱得率，降低产量。

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议，欢迎随时与我们联系：

product@tsingke.com.cn。

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。