**快捷型质粒DNA小量纯化试剂盒**

**（磁珠法）**

**货号：KTSM2706**

**■ 产品简介：**

本试剂盒是用于质粒DNA小量纯化的试剂盒。试剂盒将磁性纳米分离技术与新型细胞裂解技术相结合，可从菌体中提取高质量质粒DNA；磁珠能很好的吸附质粒DNA，杂质蛋白及细胞中其他有机化合物能被洗涤除去，可从1～4 ml LB 培养基过夜培养的菌液中纯化得到高纯度质粒DNA，制备过程无需苯酚抽提、乙醇沉淀等步骤，纯度较高，可直接用于转化、DNA序列分析、限制酶切、连接等各种酶促反应。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2706（50次）** |
| Rnase A(10 mg/ml) | 150 µl |
| 裂解液 | 30 ml |
| 洗涤液Ⅰ | 30 ml |
| 洗涤液Ⅱ | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 磁珠悬浮液 | 1 ml |

**■ 保存条件**：

本试剂盒可以在室温下（15-25℃）保存，Rnase A可于室温下（15-25℃）保存6个月，长期保存需存放于-20℃。

**■ 自备试剂**：

异丙醇，无水乙醇，磁力架。

**■ 注意事项：**

1． 收集菌液量应控制在1~ 4 ml，菌量太多会影响溶菌及质DNA的释放，纯化时会影响质粒DNA的纯度。菌体的培养时间不要超过16小时，否则难以裂解。

2． 加入裂解液、RNase A、磁珠后，颠倒混匀要轻柔，剧烈混合会导致基因组DNA的污染。

3． 加入洗涤液I后，应充分混合使蛋白质、基因组DNA等完全解离。

**■ 使用前准备事项：**

1. 使用本试剂盒时，请将 RNase A 单独加入到样品及裂解液中。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在洗涤液Ⅱ中加入相应的无水乙醇。
3. 溶液使用后，应立即盖紧盖子，避免试剂长时间与空气接触。
4. 提取的质粒量与细菌培养浓度、质粒拷贝数等因素有关。
5. 试剂中含有变性剂，操作时应佩戴手套等防护用具。

**■ 操作步骤：**

1. 收集1.5-3ml过夜培养的菌液于离心管中，12,000rpm离心1 min，弃上清。（尽可能的倒干上清，菌液较多时可多次离心收集）。
2. 加入400 µl裂解液及2.5µl RNase A 和10µl磁珠，彻底重悬菌体沉淀，温和地上下翻转8-10次使菌体充分裂解，此时菌液应变得清亮粘稠。
3. 加入400µl异丙醇，立即温和地上下翻转8-10次，将EP管放在磁力架上吸附直至磁珠完全被吸附在EP管壁上。
4. 小心吸去上清加入500µl的洗涤液I，涡旋振荡1-2min。
5. 将离心管放在磁力架上吸磁1 min，弃上清。
6. 加入600µl洗涤液Ⅱ，振荡10sec，将离心管置于磁力架吸磁1 min，待磁珠悬浮液完全吸附至管壁后，吸弃上清。
7. 重复操作步骤6。
8. 将离心管开盖室温干燥或放入洁净台风吹10 min，至离心管壁无液体残留。

**注意：干燥前尽量吸弃管内残余液体。**

1. 加入50-100µl洗脱液EB，65℃水浴5-10min，其间混匀数次。

**注意：请将管壁上的所有磁珠完全悬浮在洗脱液EB中，洗脱液EB加入量不要少于50 µl，否则影响洗脱效率。**

1. 将离心管短暂离心后，置于磁力架上吸磁1 min，待磁珠悬浮液完全吸附至管壁后，小心的吸取上清至新的离心管内，即得质粒DNA。

**注意：吸取上清时，请确保磁珠完全吸附于管壁，否则可能带出磁珠，影响产物纯度。**