

磁珠法无内毒素质粒小量提取试剂盒

Mag-Bind[®] Endo-Free Plasmid Mini Kit

货号	M1261-00	M1261-01
反应次数	1 x 96	4 x 96
Solution I	30 mL	120 mL
Solution II	30 mL	120 mL
N3 Buffer	40 mL	85 mL
IRD Buffer (使用前请稀释)	50 mL	200 mL
VHB Buffer (使用前请稀释)	66 mL	4 x 88 mL
Endo-free Water	15 mL	60 mL
Mag-Bind [®] Particles RQ	2.2 mL	8.8 mL
RNase A	100 μ L	400 μ L
User Manual	√	√

★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. 收到试剂盒后，请把 RNase A 置于-20°C作长期保存；
3. 把 RNase A 对应加入到 Solution I 后请置于 2-8°C保存；
4. Mag-Bind[®] Particles RQ 长期保存建议放置 2-8°C，使用前须充分摇匀；
5. 当贮存温度较低时，Solution II 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
6. 本试剂盒仅供科学研究使用。

★ 实验前准备

1. 将整管 RNase A 加入到 Solution I 瓶内，混匀后 2-8°C保存；
2. 按照下表配置 IRD Buffer 与异丙醇混合液，该溶液需现配现用，切勿原瓶稀释。该预混液将分别用于结合步骤和第一次洗涤步骤，请根据反应份数配置所需体

积，配置后室温放置备用；

试剂	每份反应（含结合、洗涤）需量
IRD Buffer	450 μ L
异丙醇	550 μ L

3. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 VHB Buffer 进行稀释，稀释后均置于室温保存；

货号	无水乙醇 加入量
M1261-00	84 mL
M1261-01	112 mL/瓶

4. # **重要**: Mag-Bind[®] Particles RQ 使用前需彻底涡旋混匀，让磁珠液均匀分散，倒置瓶身时看不到磁珠在底部堆积沉淀。如使用未经彻底打散的磁珠，容易引起产量低或不稳定的问题；
5. # **重要**: 洗脱液 Endo-free Water 在多次反复开盖使用后，易引起内毒素水平升高，如有需要可按照实际需求分装保存。

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心速度可达 13,000xg 的离心机
- ✓ 转速可达 1,500 rpm 的摇床、涡旋仪
- ✓ 异丙醇、无水乙醇、70%乙醇
- ✓ 无菌无热源的枪头
- ✓ 无菌无酶的 1.5 或 2 mL 离心管
- ✓ 2.2 mL 96 深孔板和 96 孔洗脱板

★实现低内毒素水平的建议步骤：

1. 实验开始前使用 70%乙醇清洁工作台表面和移液器。
2. 实验过程中要经常更换手套。

3. 对于内毒素敏感的样本，请使用无内毒素或无热原的塑料移液器吸头等耗材。
4. Endo-free Water 置于 4°C 下保存，洗脱液 Endo-free Water 在多次反复开盖使用后，易引起内毒素水平升高，如有需要可按照实际需求分装保存。

★ 提取步骤——单管提取

1. 将 1-1.5 mL 大肠杆菌接种在含有 LB 或其他选择性培养基的培养瓶中（培养基的体积不高于培养瓶的 1/4），37°C 下摇晃培养 12-16 小时后转移到 1.5 或 2.0 mL 离心管内（用户自备）；

注意：细胞的密度 OD600 最好不要超过 3.0，强烈建议使用 *endA*-基因型大肠杆菌菌株，例如 *DH5α*[®] 和 *JM109*[®] 两种菌株。

2. 室温下 10,000×g 离心 1min，收集菌体；
3. 弃除上清培养基，加入 250 μL Solution I，涡旋振荡使细菌完全分散；
注意：Solution I 使用前必须加入 RNase A，如果菌液未能完全悬浮则会影响产物的质量。
4. 往重悬液中加入 250 μL Solution II，轻轻颠倒数次混匀，如有必要，可把裂解液置于室温静置 2-3min；
注意：避免剧烈混合裂解液，静置时间不应超过 5min，否则会使染色体 DNA 断裂而使质粒纯度降低，当使用完 Solution II 以后，须盖紧瓶盖保存。
5. 根据需要从以下步骤二选一进行操作：

A. 通过离心去除沉淀：

- (1) 加入 200 μL N3 Buffer，温和颠倒 10 次至形成白色絮状沉淀；
- (2) 室温下 13,000×g 离心 10min；
- (3) 转移 500 μL 上清液至新的 1.5 mL 离心管，避免转移到沉淀；
- (4) 继续按第 4 页步骤 6 操作。

B. 通过磁珠（自备）去除沉淀：

注意：试剂盒内不提供 Mag-Bind[®] Particles LC（货号#MBPLC-05），请按需单独购买。

(1) 根据下表配置 N3 Buffer 和 Mag-Bind[®] Particles LC, 配置好的试剂需要在 72 小时内用完;

试剂	加入量/样	每 96 份反应加入总量
N3 Buffer	200 μ L	21.12 mL*
Mag-Bind [®] Particles LC	30 μ L	3.17 mL*

*每块 96 深孔板加入的试剂总量已按 10% 预算损耗体积。

(2) 加入 230 μ L N3 Buffer/Mag-Bind[®] Particles LC 预混液, 颠倒 20 次, 直至形成白色絮状沉淀;

(3) 将离心管置于磁力架上, 在室温下静置, 直到 Mag-Bind[®] Particles LC 被完全吸附, 溶液变得澄清。

注意: 如果 5 分钟后 Mag-Bind[®] Particles LC 仍漂浮在液体顶部, 可使用移液枪从顶部吸取液体并缓慢打至离心管底部, 使 Mag-Bind[®] Particles LC 更接近磁力架。

(4) 转移 500 μ L 上清液至新的 1.5 mL 离心管, 避免转移到沉淀。

(5) 继续按第 4 页步骤 6 操作。

6. **加入 500 μ L IRD Buffer/异丙醇预混液和 20 μ L Mag-Bind[®] Particles RQ, 最大速度涡旋 5min;**

注意: 请按第 1 页“实验前指引”配置 IRD Buffer/异丙醇预混液, 需现配现用, 切勿原瓶稀释!

7. **将离心管置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清, 该过程需时约 3-5min, 待磁珠完全吸附于管内一侧, 吸磁期间可以颠倒几次把管壁及管盖上磁珠冲洗到液体里。小心吸除上清;**

8. 将 1.5 mL 离心管从磁力架上取下, **加入 500 μ L IRD Buffer/异丙醇预混液, 最大速度涡旋 5min;**

9. 将离心管置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清, 磁珠完全吸附于管内一侧。吸磁期间可以颠倒几次把管壁及管盖上磁珠冲洗到液体里。小心吸除上清;

10. 将 1.5 mL 离心管从磁力架上取下，加入 700 μ L VHB Buffer (已加无水乙醇正确稀释)，最大速度涡旋 1min；
11. **【非常重要】**把 VHB Buffer/Mag-Bind[®] Particles RQ 混合液全部转移到一个新的 1.5 mL 离心管中，高速涡旋 1min。弃除旧离心管；
12. 将离心管置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧。吸磁期间可以颠倒几次把管壁及管盖上磁珠冲洗到液体里。小心吸除上清；
13. 将 1.5 mL 离心管从磁力架上取下，加入 700 μ L VHB Buffer (已加无水乙醇正确稀释)，最大速度涡旋 1min；
14. 将离心管置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧。吸磁期间可以颠倒几次把管壁及管盖上磁珠冲洗到液体里。小心吸除上清；
15. 将 1.5 mL 离心管从磁力架上取下，加入 700 μ L 70%乙醇 (自备)，最大速度涡旋 1min；
16. 将离心管置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于管内一侧。吸磁期间可以颠倒几次把管壁及管盖上磁珠冲洗到液体里。小心吸除上清；
17. 将离心管继续放置在磁力架上，打开管盖室温静置 10min 干燥 Mag-Bind[®] Particles RQ，如管盖管底有残留的液滴，请用移液枪完全吸弃；
18. 将 1.5 mL 离心管从磁力架上取下，加入 50-100 μ L Endo-free Water 至管中，涡旋混匀 3min 打散 Mag-Bind[®] Particles RQ 洗脱 DNA；
19. 将 1.5 mL 离心管放置在磁力架上，直至 Mag-Bind[®] Particles RQ 被完全吸附；
20. 将纯化好的 DNA 上清液转移到一新的 1.5 mL 离心管中放置 -20 $^{\circ}$ C 保存。

★ 提取步骤——96 孔深孔板提取

1. 将 1-1.5 mL 大肠杆菌接种在 2.2 ml 装有 LB 或其他选择性培养基的 96 深孔板中 (自备)，37 $^{\circ}$ C 下摇晃培养 12-16 小时；

注意: 细胞的密度 OD600 建议不要超过 3.0, 强烈建议使用 *endA*-基因型大肠杆菌菌株, 例如 DH5 α [®] 和 JM109[®] 两种菌株。

2. 室温下 3,000×g 离心 10min, 收集菌体;
3. 弃除上清培养基, 加入 250 μL Solution I, 在摇床上 400 rpm 转速摇匀, 使细菌完全分散;

注意: Solution I 使用前必须加入 RNase A, 如果菌液未能完全悬浮则会影
响产物的质量。

4. 往重悬液中加入 250 μL Solution II, 在摇床上 400 rpm 转速摇 1min, 如有必要, 可把裂解液置于室温静置 2-3min;

注意: 避免剧烈摇晃裂解液, 静置时间不应超过 5min, 否则会使染色体 DNA 断裂而使质粒纯度降低。当使用完 Solution II 以后, 须盖紧瓶盖保存。

5. 根据需要从以下步骤二选一进行操作:

A.通过离心去除沉淀:

(1) 加入 200 μL N3 Buffer, 在摇床上以 1,250 rpm 摇匀 1min, 直至形成白色絮状沉淀;

(2) 室温下 3,000×g 离心 10min;

(3) 转移 450 μL 上清液至新的 2.2 mL 离 96 孔深孔板中, 避免转移到沉淀;

(4) 继续按第 7 页步骤 6 操作。

B.通过磁珠 (自备) 去除沉淀:

注意: 试剂盒内不提供 Mag-Bind® Particles LC (货号#MBPLC-05), 请按需单独购买。

根据下表配置 N3 Buffer 和 Mag-Bind® Particles LC, 配置好的试剂需要在 72 小时内用完;

试剂	加入量/样	每块 96 深孔板 加入总量
N3 Buffer	200 μL	21.12 mL*
Mag-Bind® Particles LC	30 μL	3.17 mL*

* 每块 96 深孔板加入的试剂总量已按 10%预算损耗体积。

(2) 加入 230 μ L N3 Buffer/Mag-Bind[®] Particles LC 预混液，在摇床上以 1,250 rpm 摇匀 1min，直至形成白色絮状沉淀；

(3) 将 96 深孔板置于磁力架上，在室温下静置，直到 Mag-Bind[®] Particles LC 被完全吸附，溶液变得澄清。

注意：如果 5 分钟后 Mag-Bind[®] Particles LC 仍漂浮在液体顶部，可使用移液枪从顶部吸取液体并缓慢打至离心管底部，使 Mag-Bind[®] Particles LC 更接近磁力架。

(4) 转移 500 μ L 上清液至新的 2.2 mL 96 孔深孔板，避免转移到沉淀。

(5) 继续按第 7 页步骤 6 操作。

6. 加入 500 μ L IRD Buffer/异丙醇预混液和 20 μ L Mag-Bind[®] Particles RQ, 1,500 rpm 的转速摇 5min, 重悬磁珠；

注意：请按第 1 页“实验前指引”配置 IRD Buffer/异丙醇预混液，需现配现用，切勿原瓶稀释！

7. 将深孔板置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于板底，小心吸除上清；
8. 将深孔板从磁力架上取下，加入 500 μ L IRD Buffer/异丙醇预混液，以 1,500 rpm 转速摇 3min，重悬 Mag-Bind[®] Particles RQ；
9. 将深孔板置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于板底，小心吸除上清；
10. 将深孔板从磁力架上取下，加入 700 μ L VHB Buffer (已加无水乙醇正确稀释)，以 1,500 rpm 转速摇 3min，重悬 Mag-Bind[®] Particles RQ；
11. **【非常重要】把 VHB Buffer/Mag-Bind[®] Particles RQ 混合液全部转移到一个新的 1.5 mL 离心管中，高速涡旋 1min。弃除旧离心管；**
12. 将深孔板置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清，磁珠完全吸附于板底，小心吸除上清；
13. 将深孔板从磁力架上取下，加入 700 μ L VHB Buffer (已加无水乙醇正确稀释)，

以 1,500 rpm 转速摇 3min, 重悬 Mag-Bind® Particles RQ;

14. 将深孔板置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清, 磁珠完全吸附于板底, 小心吸除上清;
15. 将深孔板从磁力架上取下, 加入 700 μ L 70%乙醇 (自备), 以 1,500 rpm 转速摇 3min, 重悬 Mag-Bind® Particles RQ;
16. 将深孔板置于磁力架上室温等待至溶液变得完全澄清, 磁珠完全吸附于板底, 小心吸除上清;
17. 将深孔板继续放置在磁力架上, 打开管盖室温静置 10min 干燥 Mag-Bind® Particles RQ, 如管盖管底有残留的液滴, 请用移液枪完全吸弃;
18. 将深孔板从磁力架上取下, 加入 50-100 μ L Endo-free Water 至管中, 以 1,500 rpm 转速摇 3min, 打散 Mag-Bind® Particles RQ 洗脱 DNA;
19. 将深孔板放置在磁力架上, 直至 Mag-Bind® Particles RQ 被完全吸附;
20. 将纯化好的 DNA 上清液转移到一新的 96 孔洗脱板中放置 -20 $^{\circ}$ C 保存。

★ 产品信息卡



更多详情, 请扫描左方二维码获取原文说明书
中文翻译仅供辅助阅读



中国总代理: 广州飞扬生物工程有限公司

技术支持: 020-32051125

企业 QQ: 800848200 (人工客服在线)

中文网站: omegabiotek.com.cn

如需查询代理商名录, 请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源, 请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒, 我司恕不提供任何质量保证及售后服务。