MS系列羟基磁珠从大肠杆菌中提取质粒DNA

Application Note 002

纳 微
NanoMicro

概述

MS系列磁珠（磁性氧化硅微球）为核壳型结构，内部为一超顺磁性氧化铁内核，外部包覆氧化硅外壳。该系列微球均为亚微米级尺寸，氧化硅表面的亲水性保证了微球在水中良好的分散性。未修饰的微球表面具有硅羟基，可以从血液、细胞培养液、动植物组织以及法医学样本中提取DNA和RNA。以下为MS系列羟基磁珠从大肠杆菌中提取质粒DNA应用实例。

实验材料

磁珠	纳微MagneStar MS500-SiOH（40 mg/mL）	样本	含有pUC18质粒的E.coli
缓冲液	裂解缓冲液LC1、LC2、LC3，裂解/结合缓冲液LA1，洗涤缓冲液WA1，TE缓冲液（10 mM Tris，0.5 mM EDTA，pH 8.0）	其他试剂	70%乙醇

实验步骤（手动操作）

1. 收集菌体

a. 吸取培养好的菌液1.5 – 5 mL，于室温（20 – 25 ℃）下 8,000 × g离心 2 min收集菌体，倒净或吸干培养基；

2. 裂解菌体，释放DNA

a. 向菌体沉淀中加入250 μL裂解缓冲液LC1，吸打或震荡至彻底悬浮菌体；

b. 加入250 μL裂解缓冲液LC2，立即温和颠倒离心管5 – 10次，室温静置2 – 4 min；

c. 加入350 μL裂解缓冲液LC3，立即温和颠倒离心管5 – 10次，充分混匀；

d. 离心管置于离心机，于最大转速（≥12,000 × g）离心10 min，将上清液全部收集备用；

3. 加入磁珠结合质粒DNA

a. 取200 μL磁珠分散液至1.5 mL离心管中，置于磁力架，磁吸分离，去除上清液；

b. 加入500 μL结合缓冲液LA1，用枪头吹打混匀，再次磁吸分离；重复以上操作两次；然后加入200 μL结合缓冲液LA1，混匀磁珠待用；

c. 取200 μL步骤2所得样品，加入制备好的磁珠混悬液，混匀，置于旋转混合器，室温下孵育3 min；

d. 孵育完成后，将离心管置于磁力架上，磁吸分离，弃上清；

4. 洗涤磁珠，去除杂质

a. 磁吸分离后的磁珠中加入1.0 mL洗涤缓冲液WA1，用枪头吹打混匀，静置5 min，再次磁吸分离；重复以上操作两次；

b. 加入1.0 mL 70%乙醇，用枪头吹打混匀，静置5 min，再次磁吸分离；重复以上操作两次；

5. 从磁珠上洗脱质粒DNA

a. 剩余磁珠室温下干燥3 – 5 min，然后加入200 μL TE缓冲液，混匀后，65℃孵育5 min，磁吸分离，收集上清液；

b. 测定所得上清液体积，用超微量分光光度计测定其中的DNA浓度，计算总提取量；并通过凝胶电泳对所得DNA进行分析。

实验结果

a. 表1中为三次平行实验结果，吸光度比值证实所提取的质粒DNA纯度优良；

b. 凝胶电泳显示所得DNA完整性良好，超螺旋形式的质粒DNA最多，如图1所示（质粒有三种存在形式：线性、开环、超螺旋）。

表1：磁珠纯化质粒DNA测定结果

Sample	A260	A260/A230	A260/A280	*V* (μL)	*C* (ng/μL)	Total (μg)
1	0.6603	1.99	2.01	200	33.0	6.60
2	0.6916	2.12	2.05	200	34.6	6.92
3	0.6357	2.14	1.99	200	31.8	6.36

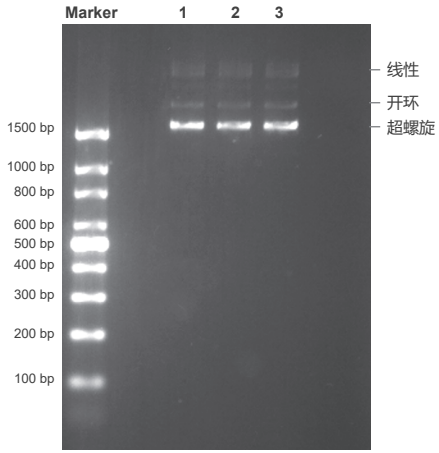

图1. 磁珠纯化质粒DNA电泳结果

相关产品订购信息

目录代码	品名	描述	包装规格
MSRSH-030	MagneStar MS300-SiOH	球形氧化硅磁珠，羟基，0.30 μm	25/50/100 mL (4.0% w/v)
MSRSH-050	MagneStar MS500-SiOH	球形氧化硅磁珠，羟基，0.50 μm	25/50/100 mL (4.0% w/v)
MSRSH-070	MagneStar MS700-SiOH	球形氧化硅磁珠，羟基，0.70 μm	25/50/100 mL (4.0% w/v)