质粒小提试剂盒

金普来 Gene-Protein Link

产品货号	G01E50L	G01E50S	贮存条件	有效期
产品规格	200T	50T	RT	一年
Buffer A	60mL	15mL	RT	一年
Buffer B	60mL	15mL	RT	一年
Buffer C	80mL	20mL	RT	一年
Buffer D	120mL	30mL	RT	一年
Buffer E	60mL	15mL	RT	一年
Buffer F	30mL	7.5mL	RT	一年
RNase A (10mg/mL)	600μL	150μL	RT	一年
吸附柱	4×50 管	50 管	RT	一年
收集管	4×50 管	50 管	RT	一年

【产品介绍】

本质粒小提试剂盒采用独特的硅膜吸附技术和试剂配方，可从 1～5 mL 大肠杆菌菌液中提取到高纯度质粒 DNA。其基本原理是在高盐、低 pH 条件下，质粒在离心过柱的同时，结合到质粒纯化柱上，但在低盐、高 pH 条件下又充分洗脱下来。每个吸附柱的最大载量可达 30μg。

本试剂盒可最大限度去除蛋白质、gDNA、RNA 和其它杂质的干扰，从而得到高纯度质粒 DNA，可直接用于细菌转化、PCR、酶切、测序、连接等生物学实验。

【需要未提供】

- 无水乙醇
- 普通离心机，水浴锅/金属浴（选用）
- 加样器，1.5mL 离心管/容器等

【使用前准备】

1. 使用前，如发现 Buffer B，Buffer C，Buffer D 有沉淀，可在 37℃水浴几分钟， 即可恢复澄清（请勿剧烈晃动 Buffer B）。
2. 使用前，将 RNase A 溶液全部加入到 Buffer A 中，混匀。

   注：混合液在 2～8℃可保存 6 个月，使用前需取出恢复至室温后使用。
3. 使用前，请在 Buffer E 中加入无水乙醇，混匀。

   Buffer E 中无水乙醇的添加量见下表：

产品货号	产品规格	无水乙醇加入量
G01E50L	200T	185mL
G01E50S	50T	46mL

【使用方法】

① 取 1.5 mL 过夜培养的菌液加入 1.5 mL 离心管（自备）中，13000 rpm 离心 30 sec，收集菌体沉淀，弃上清，再倒入约 1.5 mL 菌液并重复上述操作，将离心管倒置于吸水纸上， 倒尽或吸干培养基。

注 1：如果细菌密度明显偏低，可考虑使用更多菌液，再重复上述操作 1～2 次。

注 2：为保证后续效果，高拷贝质粒一般所用菌量不超过 5 mL，低拷贝质粒不超过 10 mL，同时应等比例增加 buffer A, buffer B 及 buffer C 的用量。

② 每管加入 250μL 的 Buffer A(确认已加入 RNase A)，使用移液器或涡旋振荡器充分混匀，悬浮菌体沉淀。

注：如果菌块未彻底混匀，将会影响裂解效果，导致提取量和纯度偏低。

③ 向离心管中加入 250μL 的 Buffer B，轻轻颠倒混匀 8～10 次，室温静置 2～5 min，使菌体充分裂解，此时溶液应变得清亮粘稠。

注 1：混匀时动作应温和，避免剧烈震荡，以免基因组 DNA 断裂造成污染。

注 2：此步骤所用时间应不超过 5min, 避免质粒受到破坏。

④ 向离心管中加入 350μL 的 Buffer C，立即轻轻颠倒 8～10 次，充分混匀，此时应出现白色絮状沉淀，13,000 rpm 离心 5min。

注 1：若上清中仍有少量白色沉淀，可延长离心时间。

注 2：Buffer C 加入后应立即混匀，避免产生局部沉淀。

⑤ 将吸附柱装入收集管中，将步骤 4 中所得的上清液转移到吸附柱中，13,000 rpm 离心 30sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注：转移上清时应避免吸到沉淀。

⑥ 向吸附柱中加入 500μL 的 Buffer D，13,000 rpm 离心 30 sec，倒掉收集管中的废液。

⑦ 向吸附柱中加入 600μL 的 Buffer E(确认已加入无水乙醇)，13,000 rpm 离心 30sec，倒掉收集管中的废液。

⑧ 重复实验步骤⑦。

⑨ 将空吸附柱 13,000rpm 离心 2 min，彻底除去残留的 Buffer E。

注：Buffer E 中的乙醇可能对下游实验产生影响，建议在离心后，将吸附柱开盖室温放置 3～5 min 使乙醇彻底挥发。

⑩ 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附膜的中间部位加入 50～100μL 的 Buffer F，室温放置 2 min，然后 13,000 rpm 离心 1 min，离心管中收集的即为高纯度质粒，置于-20℃长期保存。

注 1：为了增加质粒的回收效率，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置 2 min，然后 13,000 rpm 离心 1 min，将质粒溶液收集到离心管中。

注 2：质粒拷贝数较低或＞10 kb 时，Buffer F 在 65℃水浴预热，可以提高得率。

注 3：吸附柱的最大承载量可达 30μg。

【注意事项】

- 提取质粒的量和纯度与细菌培养浓度、菌株种类、质粒大小、质粒拷贝数等因素有关。
- Buffer B，Buffer C 和 Buffer D 具有刺激性，操作时请进行相关防护措施（佩戴口罩/手套等）。
- Buffer E 具有易燃性，应遵循相应规范流程。
- 本产品仅用于科学研究用途。

【相关产品】

货号	产品名称	规格
G01E51	胶回收&PCR 产物纯化试剂盒	50T/200T
G01E30	植物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G01E31	动物基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G01E32	血液基因组 DNA 提取试剂盒	20T/50T/100T
G06Q02	琼脂糖	100g
G06Q00	GPL Safe Green 安全核酸染料	500 μL
G06Q01	GPL Safe Red 安全核酸染料	500 μL
G02C01	2×PCR Mix (+Dye)	1mL/5mL/50mL

Version：20190118（第一版）