高纯度质粒小提中量快速提取试剂盒

Highpure Rapid Mini Plasmid Kit II

产品信息：

试剂盒组成	保存	DP110-01 50 次
RNaseA（干粉）	室温	1 支
溶液 P1	4℃	30ml
溶液 P2	室温	30ml
溶液 P3	室温	40ml
去蛋白液 PD	室温	25ml
漂洗液 WB	室温	15ml 第一次使用前加入 60ml 无水乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15ml
吸附柱 BC	室温	50 个
收集管（2ml）	室温	50 个

保存条件：本产品收到后按照上面指示温度存放各成份，储存 18 个月不影响使用效果。

产品介绍：

本试剂盒采用改进 SDS-碱裂解法裂解细胞，离心吸附柱内的硅基质膜在高盐、低 pH 值状态下选择性地结合溶液中的质粒 DNA，再通过去蛋白液和漂洗液将杂质和其它细菌成分去除，最后低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将纯净质粒 DNA 从硅基质膜上洗脱。

提取得率：

质粒类型	菌液量	得率	质粒
低拷贝	5-15ml	5-25μg	如：pBR322、pACYC 、pET 系列等
高拷贝	5-15ml	15-70μg	如：pMD18-T、pUC19 等

产品特点：

1.离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。

2.独有的去蛋白液配方，可以高效去除残留的核酸酶，即使是核酸酶含量丰富的菌株如 JM 系列、HB101 也可以轻松去除。有效防止了质粒被核酸酶降解。

3.快速、方便，不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也不需要乙醇沉淀。获得的质粒产量高、纯度好， 可以直接用于酶切、转化、PCR、体外转录、测序等各种分子生物学实验。

注意事项:

1.**第一次使用时，将试剂盒所带的全部 RNase A 加入溶液 P1 后（终浓度 100μg/ml）置于 4℃保存。**如果溶液 P1 中 RNase A 失活，提取的质粒可能会有微量 RNA 残留，在溶液 P1 中补加 RNase A 即可。

2.环境温度低时溶液 P2 中 SDS 可能会析出浑浊或者沉淀，可在 37℃水浴加热几分钟，即可恢复澄清，不要剧烈摇晃，以免形成过量的泡沫。

3.避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。

4.溶液 P3 和去蛋白液 PD 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**

5.提取质粒的量与细菌培养浓度、质粒拷贝数等因素有关。一般高拷贝质粒，建议**接种单菌落于 5ml-15ml 加合适抗生素的 LB 培养基，过夜培养 14-16 个小时**，可提取出多达 70μg 的纯净质粒。如果所提质粒为低拷贝质粒或大于 10kb 的大质粒，应适当加大菌体使用量，同时按比例增加 P1、P2、P3 的用量，其它步骤相同。

6..得到的质粒 DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。OD_{260} 值为 1 相当于大约 50μg/ml DNA。**电泳可能为单一条带，也可能为 2 条或者多条 DNA 条带，**这主要是不同程度的超螺旋构象质粒泳动位置不一造成，与提取物培养时间长短、提取时操作剧烈程度等有关。**本公司产品正常操作情况下基本超螺旋可以超过 90%。**

7.**洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA**，不影响下游酶切、连接等反应。**也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5**，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱质粒应该保存在－20℃。质粒 DNA 如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl，1mM EDTA，pH 8.0），但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

自备试剂：无水乙醇

操作步骤：

提示：

⇨ 第一次使用前请先在漂洗液 WB 瓶中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入!

⇨ 将 RNase A（干粉）倒入溶液 P1 中并使用 P1 冲洗离心管，混匀，每次使用后置

于 2-8℃保存。

⇨ 将溶液 P3 放在冰上预冷。

1. 取 5-15 ml 过夜培养的菌液，12,000rpm 离心 1 min，尽可能倒干上清，收集菌体。
2. 用 500µl 溶液 P1 重悬菌体沉淀，涡旋振荡至彻底悬浮。
3. 加 500µl 的溶液 P2，温和地上下翻转 4 -7 次使菌体充分裂解。
4. 加 700µl 溶液 P3，立即温和地上下翻转 4 -7 次，充分混匀时会出现白色絮状沉淀。12,000rpm 离心 10 min，小心取上清。
5. 将上一步所得上清分次加入吸附柱 BC 中（吸附柱放入收集管中），12,000rpm 离心 30-60 sec，倒掉收集管中的废液。
6. 可加入 500µl 去蛋白液 PD，12,000rpm 离心 30-60 sec，弃废液。
7. 加入 500µl 漂洗液 WB（**请先检查是否已加入无水乙醇！**），12,000rpm 离心 30 sec，弃掉废液。
8. 重复步骤 7。
9. 将吸附柱 BC 放回空收集管中，12,000rpm 离心 2 min，将吸附柱置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 取出吸附柱 BC，放入一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位加 100µl 洗脱缓冲液 EB（洗脱缓冲液事先在 65-70℃水浴中加热效果更好），室温放置 2 min，12,000rpm 离心 1 min。如果需要较多量质粒，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，离心 1 min，将质粒溶液收集到离心管中。

总机：010-52609502/52609503　7×12小时服务热线：15727355159
售后服务部：总机转8011/biomed168@163.com

本产品仅供研究
不用于临床诊断