

农杆菌质粒小量快速提取试剂盒

Agrobacterium Rapid Mini Plasmid Kit



产品信息:

试剂盒组成	保存	DP112-01 100 次
RNase A (干粉)	室温	1 支
溶液 AB1	4℃	30ml
溶液 AB2	室温	30ml
溶液 AB3	室温	40ml
去蛋白液 PE	室温	31.5ml 第一次使用前加入 18.5ml 无水乙醇
漂洗液 WB	室温	25ml 第一次使用前加入 100ml 无水乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	10ml
吸附柱 AC	室温	100 个
收集管 (2ml)	室温	100 个

保存条件: 本试剂盒在室温储存 18 个月不影响使用效果。

产品介绍:

农杆菌质粒提取试剂盒是专门用于根癌农杆菌和发根农杆菌的质粒小量提取试剂盒，采用温和的细胞裂解液破碎农杆菌细胞，对质粒损伤更小，可提高质粒产量；操作简单，提取的质粒纯度高，可直接转化大肠杆菌感受态，用于扩提质粒。

注意事项:

- 第一次使用时，将试剂盒所带的全部 RNase A 加入溶液 AB1 后（终浓度 100 μ g/ml）置于 4℃ 保存。如果溶液 AB1 中 RNase A 失活，提取的质粒可能会有微量 RNA 残留，在溶液 AP1 中补加 RNase A 即可。
- 环境温度低时溶液 AB2 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。

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 和去蛋白液 PE 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 AB1 中并使用 AB1 冲洗离心管，混匀，每次使用后置于 2-8℃ 保存。
- ⇒ 将溶液 AB3 放在冰上预冷，可以提高产量。

1. 取 2-5 mL 农杆菌培养物，12,000rpm 离心 30sec，弃上清，收集菌体。
2. 用 250μl 溶液 AB1 重悬菌体沉淀，涡旋振荡至彻底悬浮。
3. 加 250μl 的溶液 AB2，温和地上下翻转 4-7 次使菌体充分裂解。
4. 加 350μl 溶液 AB3，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，13,000rpm 离心 10min，小心取上清。
5. 将上一步所得上清加入吸附柱 AC 中（吸附柱放入收集管中），12,000rpm 离心 30-60 sec。
6. 步骤 5 的流出液**重新倒入**吸附柱 AC 中，12000 rpm 离心 30-60sec，弃废液。
7. 加入 500μl 去蛋白液 PE，12,000rpm 离心 30-60sec，弃废液。
8. 加入 500μl 漂洗液 WB，12,000rpm 离心 30sec，弃废液。
9. 重复步骤 8。
10. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，12,000rpm 离心 2min，除去残留漂洗液。
11. 取出吸附柱 AC，放入一个干净的离心管中，室温放置 3 分钟（此步骤可略过）。
12. **在吸附膜的中间部位**加 25μl-50μl 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 2min，12,000rpm 离心 1min。

关于农杆菌质粒拷贝数及大肠扩繁质粒的说明：

农杆菌中的质粒只有 1-5 个拷贝；而大肠杆菌中质粒拷贝数通常为 50-500 个/Cell；相同体积菌块提取的质粒，大肠是农杆菌的 50-100 倍。

所以农杆菌提取的质粒**无法**通过电泳或分光光度计检测，也**无法**测序鉴定，**无法**酶切鉴定；可以作为 PCR 模板使用，也可以转化大肠杆菌扩繁质粒，通常建议使用量为：使用 2-5μl 用作 PCR 模板；使用 5-10μl 用于转化大肠杆菌。

20260624