

质粒小量提取试剂盒

产品货号：26383

产品规格：50T/100T

产品简介：

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞，根据离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的 DNA 的原理特异性提取质粒 DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料能高效、专一地吸附 DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。使用本试剂盒提取的质粒 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、连接和转化等试验。

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶体上的标签（每瓶需单独加入 60mL 无水乙醇）。溶液 I 在使用前先加入 RNase A（将试剂盒中提供的 RNase A 全部加入），混匀，置于 2-8℃ 保存。如非指明，所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

试剂组成：

产品名称	50T	100T	保持条件
RNase A	100μL	100μL×2	-20℃
溶液I	15mL	30mL	室温
溶液II	15mL	30mL	室温
溶液III	20mL	40mL	室温
漂洗液	20mL	20mL×2	室温
洗脱液	15mL	30mL	室温
吸附柱	50 个	50 个	室温
收集管	50 个	50 个	室温

操作步骤（仅供参考）：

1. 取 1-5mL 细菌培养物，12000rpm 离心 1min，尽量吸除上清（菌液较多时可以通过多次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中）。
2. 向留有菌体沉淀的离心管中加入 250μL 溶液I(请先检查是否已加入 RNase A)，使用移液器或旋涡振荡器彻底悬浮细菌细胞沉淀。注意：如果菌块未彻底混匀，会影响裂解导致质粒提取量和纯度偏低。
3. 向离心管中加入 250μL 溶液II，温和地上下翻转 6-8 次使菌体充分裂解。注意：混匀一定要温和，以免污染细菌基因组 DNA，此时菌液应变得清亮粘稠，作用时间不要超过 5min，以免质粒受到破坏。
4. 向离心管中加入 350μL 溶液III，立即温和地上下翻转 6-8 次，充分混匀，此时会出现白色絮状沉淀。12000rpm 离心 10min，用移液器小心地将上清转移到另一个干净的离心管中，尽量不要吸出沉淀。注意：溶液III加入后应立即混合，避免产生局部沉淀。如果上清中还有微小白色沉淀，可再次离心后取上清。
5. 取上一步上清，加入 0.35 倍体积无水乙醇，充分混匀。（体积过多可分两次混合，然后上柱）
6. 将上一步所得上清液/混合液加入吸附柱中(吸附柱加入收集管中)，室温放置 2min，12000rpm 离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中(如果为了提高得率，可将收集管中的液体加入吸附柱再次吸附一次)。
7. 向吸附柱中加入 750μL 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
8. 向吸附柱中加入 700μL 漂洗液，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

9. 12000rpm 离心 2min, 将吸附柱敞口置于室温或 50°C 温箱放置数分钟, 目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验, 如酶切、PCR 等。
10. 将吸附柱放入一个干净的离心管中, 向吸附膜中央悬空滴加 50-200 μ L 经 65°C 水浴预热的洗脱液, 室温放置 2min, 12000rpm 离心 1min。
11. 为了增加质粒的回收效率, 可将得到的洗脱液重新加入吸附柱中, 室温放置 2min, 12000rpm 离心 1min。

注意事项:

1. 使用前请先检查溶液II和溶液III是否出现混浊, 如有混浊现象, 可在 37°C 水浴中加热几分钟, 待溶液恢复澄清后再使用。溶液II、溶液III、漂洗液使用后应立即拧紧盖子。
2. 洗脱缓冲液体积不应少于 50 μ L, 体积过小影响回收效率; 洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响, 若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围), pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率, DNA 产物应保存在 -20°C, 以防 DNA 降解。
3. 如果所提质粒为低拷贝质粒或大于 10kb 的大质粒, 应加大菌体使用量, 使用 5-10mL 过夜培养物, 同时按照比例增加溶液I、溶液II和溶液III的用量, 吸附和洗脱时可以适当的延长一段时间, 以增加提取效率。
4. DNA 浓度及纯度检测: 得到的质粒 DNA 纯度与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。得到的 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。DNA 应在 OD260 处有显著吸收峰, OD260 值为 1 相当于大约 50 μ g/mL 双链 DNA、40 μ g/mL 单链 DNA。OD260/OD280 比值应为 1.7-1.9, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用去离子水, 比值会偏低, 因为 pH 值和离子存在会影响吸光值, 但并不表示纯度低。

保存: 常温保存, 复检期一年。(注: RNase A 以附件形式发货, 收到未使用前请 -20°C 保存)。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co., Ltd

地址: 郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com