

质粒DNA快速小量提取试剂盒

(使用说明书 Ver.1.1.4)

产品亮点

- ◇ 独有的显色反应，可以直接观察到细胞裂解中和的程度，极大方便操作者判断其状态。
- ◇ 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，内毒素含量极低，可以直接用于酶切、转化、PCR、体外转录、测序、转染等各种分子生物学实验。
- ◇ 此产品仅供科研使用。

产品货号：

TD428-100 (100次反应) TD428-200 (200次反应) TD428-400 (400次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品特性	1
溶液制备	2
操作步骤	2
◇ 负压操作步骤	2
◇ 离心操作步骤	3
组件查询	3

产品组份

试剂盒组成	100次	200次	400次	保存
RNase A溶液	600 μ l	2*600 μ l	4*600 μ l	4°C
P1	30ml	60ml	2*60ml	4°C
P2	30ml	60ml	2*60ml	室温
P3	30ml	60ml	2*60ml	室温
质粒DNA洗涤液1	2*55ml	4*55ml	8*55ml	室温
质粒DNA洗涤液2	23ml	2*23ml	4*23ml	室温
	第一次使用前按说明加指定量乙醇			
质粒DNA洗脱液	10ml	10ml	2*10ml	室温
2号PX纯化柱(带盖)	50个*2	50个*4	50个*8	室温
2ml收集管	50个*2	200个	200个*2	室温
2ml收集管(带盖)	50个*2	200个	200个*2	室温

注意事项

- ◇ 环境温度低时溶液P2中SDS可能会析出沉淀，可在37°C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。
- ◇ 提取质粒的量与细菌培养浓度、质粒拷贝数、细胞OD值等因素有关，细菌细胞OD值=5，得率最优。
- ◇ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ◇ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或pH值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。

产品特性

- ◇ DNA纯度：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、测序转染等各种分子生物学实验。一般情况Abs260/280 \geq 1.8，Abs260/230 \geq 2.0，内毒素含量小于1EU/ μ g。
- ◇ 质粒DNA产量：每次可提取到约100 μ g，主要依据质粒的拷贝数，培养物的成长环境、细胞OD值等因素。
- ◇ 质粒DNA大小：最高可达25kb。
- ◇ 洗脱体积： \geq 25 μ l。

- ◇ 操作温度：室温（15-30°C）。
- ◇ 操作时间：15分钟。

溶液制备

- ◇ 第一次使用时，将试剂盒中全部RNase A加入溶液P1后（终浓度200 μ g/ml）置于2-8°C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。
- ◇ 10次反应的质粒DNA洗涤液2，应添加20ml 95%的乙醇到5ml的质粒DNA洗涤液2中。100/200次反应的质粒DNA洗涤液2，应添加88ml 95%的乙醇到23ml的质粒DNA洗涤液2中，加入后请及时在方框内打钩标记，以免多次加入！
- ◇ P3在使用前需要在冰上预先冷却。
- ◇ 准备预冷过的异丙醇备用。

操作步骤:

1. 取1-3ml过夜培养的菌液（OD值=5得率最优，需满足此条件，过多菌量会导致裂解不完全或纯化柱堵塞）转移到带盖收集管中，全速离心力下离心30秒，尽可能多去地除上清，收集菌体。
2. 用300 μ l溶液P1重悬菌体沉淀，可用吸头反复吹打或涡旋振荡至彻底悬浮。（如果有未彻底混匀的菌块，会影响裂解，导致提取量和纯度偏低。）
3. 加300 μ l溶液P2，温和地上下翻转8次使菌体充分裂解，室温放置2-5分钟。（温和地混合，不要剧烈振荡，以免基因组DNA剪切断裂！所用时间不应超过5分钟！以免质粒受到破坏。此时菌液应变得清亮粘稠，如果菌体少，很快清亮粘稠后就可以做下一步。）
4. 加300 μ l溶液P3（预冷），立即温和地上下翻转8次，中和完全后会呈现黄色絮状沉淀。（中和完全后溶液呈现黄色，且没有形成结团的现象，中和物相对松散）
5. 将上述中和的裂解物在 16,000 xg 的离心力下离心 5 分钟。
6. 将步骤5中的大约最多750 μ l上清转移到干净的1.5ml离心管内。（不要碰到下面的黄色沉淀）
7. 在1.5ml离心管内加入0.6倍~0.8倍预冷的异丙醇（过多的异丙醇可能导致RNA残留量增加），盖上盖子颠倒8次左右使其混匀。

以下步骤可以通过真空负压的方式也可以通过离心的方式进行操作（负压设备所用真空多联器推荐美国ZYMO RESEARCH公司）

负压操作步骤

1. 将2号PX纯化柱连接到负压真空多联器上，倒入第7步的混合液倒入纯化柱中，打开真空开关，使液体完全通过纯化柱。
2. 关掉真空开关，倒入800 μ l质粒洗涤液1到2号PX纯化柱内，打开真空开关，让液体完全通过纯化柱。
3. 关掉真空开关，加入800 μ l质粒DNA洗涤液2（请先检查是否已加入乙醇！）到2号PX纯化柱内，打开真空开关让液体完全通过纯化柱。

- 将2号PX纯化柱套在2ml收集管上，然后放置在台式离心机在 $\geq 10,000xg$ 条件下空转2分钟以去除残留乙醇。
- 将2号PX纯化柱套在一个干净的1.5ml离心管内，添加25 μ l-50 μ l的质粒DNA洗脱液到纯化柱基质上。（洗脱液事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中预热，洗脱效果更好），室温放置2分钟，在 $\geq 10,000xg$ 条件下离心1分钟来洗脱质粒DNA。

离心操作步骤

- 将2号PX纯化柱套在2ml收集管上，倒入第7步的混合液，10000xg离心力下离心1分钟，去除滤出液。
- 加入800 μ l质粒DNA洗涤液1，10000xg离心力下离心1分钟，弃掉废液。
- 加入800 μ l质粒DNA洗涤液2（先检查是否已添加乙醇）10000xg离心力下离心1分钟，弃掉废液。
- 将2号PX纯化柱套在2ml收集管上，然后放置在台式离心机在 $\geq 10,000xg$ 条件下空转2分钟以去除残留乙醇。
- 将2号PX纯化柱套在一个干净的1.5ml离心管内，添加25 μ l-50 μ l的质粒DNA洗脱液到纯化柱基质上。（洗脱液事先在65-70 $^{\circ}$ C水浴中预热，洗脱效果更好），室温放置2分钟，在 $\geq 10,000xg$ 条件下离心1分钟来洗脱质粒DNA。

组件查询

组件名称	货号	规格	保存
RNase A溶液	TE1008-0.6	600 μ l	4 $^{\circ}$ C
P1	TD4200-1-30	30ml	4 $^{\circ}$ C
	TD4200-1-60	60ml	
P2	TD4200-2-30	30ml	室温
	TD4200-2-60	60ml	
P3	TD4200-3-30	30ml	室温
	TD4200-3-60	60ml	
质粒DNA洗涤液1	TD4200-9-55	55ml	室温
质粒DNA洗涤液2	TD4200-10-23	23ml	室温
质粒DNA洗脱液	TD4200-7-10	10ml	室温
2号PX纯化柱（带盖）	TC1086-50-C	50个	室温
2ml收集管	TC1001-50	50个	室温
	TC1001-200	200个	
2ml收集管（带盖）	TC1001-50-C	50个	室温
	TC1001-200-C	200个	