

产品说明书

产品名称: Plasmid Extraction Mini Kit (质粒小提试剂盒)

产品货号: BN12035

产品规格: 100T, 200T

应用范围: 质粒提取试剂

产品内容

组分	100T	200T
A : U1 Buffer	25 mL	50 mL
B : U2 Buffer	25 mL	50 mL
C : U3 Buffer	35 mL	70 mL
D : W1 Buffer	45 mL	90 mL
E : Wash Buffer	20 mL	40 mL
F : Elution Buffer	15 mL	30 mL
G : 吸附柱 (Spin Column)	100个	200个
H : 收集管 (Collection Tubes)	100个	200个
I : RNase A	2.5 mg	5 mg

储存条件

室温保存。有效期一年, RNase A 粉末保存于-20℃, 加入 RNase A 之后的 U1 Buffer 保存于 4℃。

产品介绍

Biorigin (Beijing) Inc.的质粒提取试剂盒, 是一种以硅胶柱为基础的的质粒提取产品, 可以在 25min 内获得高质量的质粒 DNA。离心吸附柱中采用特有的新型材料, 高效、专一的吸附质粒 DNA。它可以从菌液中提取<15 kb 的质粒 DNA。每个吸附柱最多可结合 60 µg 质粒 DNA。提取后的质粒可用于下游实验, 如转化、测序、PCR 和酶切等。质粒提取的收率与纯度和宿主细菌的种类和培养条件, 细胞裂解程度, 质粒稳定性, 添加的抗生素的种类有关。

使用方法

实验前准备

- 第一次使用前, 将 RNase A 全部加入 U1 Buffer 中, 充分混匀。
- 第一次使用前, 需要将适当体积的无水乙醇添加到 Wash Buffer 中。如 80mL 乙醇 (96%~100%) 加入 20 mL Wash Buffer, 或者 200mL 乙醇 (96%~100%) 加入 50 mL Wash Buffer。
- U2 Buffer 如果发现浑浊, 37℃水浴加热即可恢复澄清。
- 自备 1.5 mL 离心管

实验操作

1. 将 1-3mL 生长良好的菌液转移至离心管中, 量大可分两次转移。
2. 11,000×g 离心 1 min, 使细菌沉淀, 弃上清。
3. 加入 200 µL U1 Buffer (确保已加入 RNase A), 用移液枪吹打混匀使细菌完全悬浮。
4. 加入 200 µL U2 Buffer 轻柔混匀 5-10 次, 室温静置 2-5 min 裂解细胞至溶液澄清, 裂解时间不宜超过 5 min。
5. 加入 300 µL U3 Buffer 用移液枪吹打混匀, 避免过多白色物质粘于管壁。
6. 最大转速 (~18,000×g) 离心 5 min, 将上清收集到吸附柱中, 注意尽量不要带入白色物质。
7. 将吸附柱置于收集管上 11,000×g 离心 30 sec, 弃滤液, 将吸附柱放回收集管中。
8. 加入 400 µL W1 Buffer 于吸附柱上, 11,000×g 离心 30 sec, 弃滤液, 将吸附柱放回收集管中。
9. 加入 700 µL Wash Buffer (确保乙醇已经加入) 于吸附柱上, 11,000×g 离心 30 sec, 弃滤液, 将吸附柱放回收集管

中。

10. 最大转速 ($\sim 18,000 \times g$) 离心 5 min, 以甩干吸附柱。
11. 将吸附柱置于新的 1.5 mL 离心管中。
12. 加入 50 μ L-100 μ L Elution Buffer 或者无菌水于吸附柱膜中央, 静置 1 min。
13. 最大转速 ($\sim 18,000 \times g$) 离心 1 min, 收集质粒 DNA, 质粒 DNA 保存于 -20°C 。

注意事项

1. W1 Buffer 含刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套和眼镜, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服, 谨防吸入口鼻。
2. 细菌繁育时间不宜超过 16 h。
3. 在步骤 10 中, 确保乙醇以全部除去, 可室温静置几分钟使其挥发。