上海源叶生物科技有限公司
Shanghai yuanye Bio-Technology Co.， Ltd
电话：021-61312973　传真：021-55068248
网址：www.shyuanye.com
邮箱：shyysw@sina.com

高纯质粒小提试剂盒

货号：R32710

规格：50T，100T，200T

保存温度：室温保存，有效期 12 个月。

产品简介：

本试剂盒采用优化改良的 SDS-碱裂解法，结合先进的硅胶膜吸附技术，使离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的 DNA，可快速纯化质粒 DNA。适用于从 1~4 mL 的细菌培养物中提取多至 20 μg 高纯度的质粒 DNA，提取的质粒 DNA 可用于酶切、PCR、测序、细菌转化、体外转录与翻译等分子生物学实验。

产品特点：

操作简便：在 30 min 内可完成多个样品的质粒 DNA 提取；

高效：可提取菌体 85%以上的质粒 DNA。

产品组分：

编号	组分	50T	100T	200T
1	RNase A (100 mg/mL)	15 μL	30 μL	60 μL
2	Buffer P1	15 mL	30 mL	60 mL
3	Buffer P2	15 mL	30 mL	60 mL
4	Buffer P3	20 mL	40 mL	80 mL
5	Buffer W1	24 mL	48 mL	75 mL
6	Elution Buffer	15 mL	15 mL	25 mL
7	吸附柱	50 套	100 套	200 套

使用方法：

第一次使用前应检查每瓶漂洗液 Buffer W1 中是否加入无水乙醇。

1. 取 1~4 mL 过夜培养的菌液，12,000 ×g 离心 1 min，收集菌体，尽量吸除上清；

2. 加入 250 μL Buffer P1（请先检查是否已加入 RNase A）重悬菌体沉淀（若菌体沉淀未彻底悬浮会影响裂解效果，导致提取得率和纯度偏低），涡旋震荡至无菌块为止；

3. 加入 250 μL Buffer P2，温和地上下翻转 6~8 次，使菌体充分裂解；

注意：此步需要温和翻转，不能剧烈震荡，以免打断基因组 DNA，使提取的质粒中含有基因组 DNA 片段。混合后菌体应变得清亮粘稠，若未变得清亮，可能是由于菌体量过多，裂解不充分导致，应减少菌体量。

4. 加入 350 μL Buffer P3，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），12,000 ×g 离心 10~15 min；

5. 小心吸取上清，将上清转入吸附柱中（注意不要吸出沉淀），12,000 ×g 离心 1 min，弃废液，将吸附柱放回空收集管；

6. 在吸附柱中加入 600 μL Buffer W1（请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇）12,000 ×g 离心 1 min，弃废液；

7. 重复步骤 6；

8. 将吸附柱放回空收集管中，12,000 ×g 离心 2 min；

9. 取出吸附柱，放入干净的 1.5 mL 离心管中，20~25℃静置 2 min，使残留的乙醇挥发。在吸附膜的中间部位加入 35~50 μL Elution Buffer（60~65℃预热 Elution Buffer 效果更好），20~25℃静置 2 min，12,000 ×g 离心 2 min。如需较多量 DNA，可将得到的溶液重新转入吸附柱中，离心 2 min。

注意：洗脱体积越大，洗脱得率越高，如需得到较高浓度的 DNA，可以适当减少洗脱体积，但最小体积不应少于 25 μL，体积过小会降低 DNA 洗脱得率，降低产量。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，建议 ddH2O 洗脱，并保证其 pH 值在 7.0~8.5 范围内，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率；且 DNA 产物应保存在-20°C，以防 DNA 降解。

注意事项：

1. Buffer P1 在使用前先加入 RNase A（试剂盒中提供的 RNase A 全部加入），混匀后置于 2~8℃保存；

2. 第一次使用前，向 Buffer W1 中加入无水乙醇，加入量参见瓶上标签；

3. 当环境温度低时，Buffer P2 中的 SDS 可能出现浑浊或析出沉淀，将其 37℃水浴加热几分钟即可恢复澄清，请勿剧烈摇晃，以免形成泡沫；

4. Buffer P3 中含刺激性溶液，操作时要戴乳胶手套、口罩和眼镜。若沾染皮肤、眼睛应立即用大量清水或生理盐水冲洗，必要时及时就医；

5. 质粒提取得率和质量与宿主菌的种类、质粒拷贝数、质粒的稳定性等因素有关；

6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；

7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。