



# 质粒DNA小量抽提试剂盒(离心柱法)

## 目录

1. 产品介绍.....	1
2. 注意事项.....	1
3. 使用流程.....	1
4. 订购信息.....	2

## 1. 产品介绍

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞,再通过离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的DNA提取质粒DNA。离心吸附柱中采用的硅基质膜能够高效、专一吸附DNA,杂质蛋白质及其他细胞内容物被去除达到快速纯化质粒DNA的目的。本试剂盒适用于提取1-5ml细菌培养物,质粒提取得率和质量与宿主菌的种类和培养条件,细胞的裂解,质粒拷贝数,质粒的稳定性,抗生素等因素有关。使用本试剂盒提取的质粒DNA可适用于各种常规操作,包括测序、体外转录与翻译、酶切、转化等一些常规分子生物学实验。

试剂名称	50 T
溶液P1	15ml
溶液P2	15ml
溶液P4	20ml
洗涤液 I	15ml
洗涤液 II	15ml
洗脱液	10ml
RNase (20 mg/ml)	500 $\mu$ l
吸附柱AP50	50个
收集管	50个

## 2. 注意事项

**2.1** 使用前检查各组分是否出现沉淀。若有,请轻轻摇晃混合均匀,或37°C水浴重新溶解。

**2.2** 第一次使用前请将 RNase 全部加入溶液 P1 中,混匀后置于 2-8°C 保存。

**2.3** 洗涤液 I、洗涤液 II 使用前请按标签提示加无水乙醇,并混合均匀。

## 3. 使用流程

### 3.1 提取步骤

**3.1.1** 取 1-5ml 细菌培养物,加入离心管中,使用常规台式离心机 12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1 min, 尽量吸尽上清。(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)。

**3.1.2** 向留有菌体沉淀的离心管中加入 250  $\mu$ l 溶液 P1 (请先检查是否加入 RNase), 使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀将菌体充分悬浮。**注意:** 如果菌体未彻底混匀,质粒提取量和纯度会偏低。

**3.1.3** 向离心管中加入 250  $\mu$ l 溶液 P2, 温和的上下翻转 6-8 次使菌体充分裂解,室温静置 1~5 min (时间不宜过长),以免质粒 DNA 受到破坏。

**3.1.4** 向离心管中加入 350  $\mu$ l 溶液 P4,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。12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 5min。

**3.1.5** 将上一步收集的上清液全部转移到吸附柱 AP50 中(吸附柱放入收集管中),注意尽量不要吸出沉淀。12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1min,倒掉收集管中的废液,将吸附柱 AP50 放入收集管中。

**3.1.6** 将上一步收集的上清液全部转移到吸附柱 AP50 中(吸附柱放入收集管中),注意尽量不要吸出沉淀。12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心



1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 AP50 放入收集管中。

3.1.7 向吸附柱 AP50 中加入 500 $\mu$ l 洗涤液 II (请先检查是否加入无水乙醇), 12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 1min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱 AP50 放入收集管中。

3.1.8 重复操作步骤 3.1.7。

3.1.9 将吸附柱 AP50 放入收集管中, 12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2min, 目的是将吸附柱中残余的洗涤液 II 去除, 否则洗涤液 II 中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。

3.1.10 将吸附柱 AP50 置于一个干净的离心管中, 向吸附柱膜的中间部位悬空滴加 50-100 $\mu$ l 洗脱液, 室温放置 2min, 12,000rpm (~13,400 $\times$ g) 离心 2min 将质粒溶液收集到离心管中, 如不立即进行下游实验, 于 -20 $^{\circ}$ C 保存备用。洗脱缓冲液体积不应少于 50 $\mu$ l, 体积过小影响回收效率。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, 12,000rpm 离心 1min。

### 3.2 低拷贝或大质粒 (>10 kb) 提取

如果所提质粒为低拷贝或大于 10kb 的大质粒, 应加大菌体用量, 使用 5-10ml 过夜培养物, 同时按照比例增加溶液 P1、溶液 P2 和溶液 P4 的用量, 洗脱液应在 65-70 $^{\circ}$ C 水浴预热, 在吸附和洗脱步骤时可以适当的延长延长时间, 以增加提取效率, 其他步骤相同。

## 4. 订购信息

产品名称	货号	规格
质粒DNA小量抽提试剂盒 (离心柱法)	BK0008-01	50 T