



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、转化等一些常规的分子生物学实验。

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)	500μl
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×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 μl 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 μl 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 μl 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×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×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 向吸附柱AP50中加入500ul洗涤液I(请先检查是否加入无水乙醇)，12,000rpm (~13,400×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 μ l 洗涤液 II (请先检查是否加入无水乙醇), 12,000rpm (\sim 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 (\sim 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 μ l 洗脱液, 室温放置 2min, 12,000rpm (\sim 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°C 保存备用。洗脱缓冲液体积不应少于 50 μ 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°C 水浴预热, 在吸附和洗脱步骤时可以适当的延长时间, 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