

# 高纯质粒小量制备试剂盒（离心柱型）

50T WLA040a 100T WLA040b



仅用于科学研究,不能用于诊断

## 产品信息

### 产品名称

高纯质粒小量制备试剂盒（离心柱型）

### 产品概述

高纯质粒小量制备试剂盒（Plasmid Mini Preparation Kit）是一种用于从大肠杆菌中进行小量质粒的快速抽提的试剂盒。本试剂盒采用改进SDS-碱裂解法裂解细胞，离心吸附柱内的硅基质膜在高盐、低PH值状态下选择性地结合溶液中的质粒DNA，再通过去蛋白液和漂洗液将杂质和其他细菌成分去除，最后低盐、高PH值的洗脱缓冲液将纯净质粒DNA从硅基质膜上洗脱。本试剂盒快速，方便，无需使用有毒的苯酚、氯仿等试剂，也无需酒精沉淀，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、测序等各种分子生物学实验。

### 包装信息

| 试剂名称     | WLA040a<br>(50T)      | WLA040b<br>(100T)     | 保存条件             |
|----------|-----------------------|-----------------------|------------------|
| RNase A  | 200 $\mu$ l (10mg/ml) | 400 $\mu$ l (10mg/ml) | -20 $^{\circ}$ C |
| 溶液P1     | 15ml                  | 30ml                  | 4 $^{\circ}$ C   |
| 溶液P2     | 15ml                  | 30ml                  | 室温               |
| 溶液P3     | 20ml                  | 40ml                  | 室温               |
| 去蛋白液     | 30ml                  | 50ml                  | 室温               |
| 漂洗液WB    | 15ml                  | 25ml                  | 室温               |
|          | 第一次使用前按照说明加指定量无水乙醇    |                       |                  |
| 洗脱缓冲液EB  | 15ml                  | 20ml                  | 室温               |
| 吸附柱AC    | 50个                   | 100个                  | 室温               |
| 收集管（2ml） | 50个                   | 100个                  | 室温               |

### 注意事项

- 第一次使用时把试剂盒所提供的RNase A全部加到溶液P1中，混匀，并在瓶上做好标记，置于4 $^{\circ}$ C保存。如果溶液P1中RNase A失活，提取的质粒可能会混杂有微量RNA残留，这时可在溶液P1中补加RNase A即可。
- 第一次使用前请先在15ml漂洗液WB中加入45ml（50次制备）无水乙醇，充分混匀，加入后请及时标记已加入乙醇。
- 环境温度较低时，溶液P2中SDS可能会析出浑浊或者沉淀，可在37 $^{\circ}$ 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。

### 操作流程

- 取1-5ml过夜培养的菌液，12000rpm离心30s，弃上清，收集菌体，尽可能的倒干上清。处理超过1ml菌液可以离心弃上清后，在同一个管内加入更多的菌液，重复步骤1，直到收集足够的菌体。
- 用250 $\mu$ l溶液P1重悬菌体沉淀，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。
- 加250 $\mu$ l溶液P2，温和地上下翻转6-10次使菌体充分裂解，直到溶液变得清亮。温和地混合，不要剧烈振荡，以免基因组DNA剪切断裂！所用时不应超过5min！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。
- 加350 $\mu$ l溶液P3，立即温和地上下翻转6-10次，室温放置5min。室温12000rpm离心15min，小心取上清。
- 将吸附柱安置于收集管上，将上一步所得上清液加入吸附柱AC中（吸附柱放入收集管中，溶液太多可分两次加入），12000rpm离心1min，弃滤液。
- 加入500 $\mu$ l去蛋白液PE，12000rpm离心30-60s，弃滤液。此步骤为了去除痕量核酸酶等杂质，如所用菌株为JM系列、HB101等endA菌株或野生型菌株，核酸酶含量丰富，应加此步骤；如所用菌株为XL-1 Blue和DH5 $\alpha$ 等缺陷性菌株，核酸酶含量低，则可略过此步骤。
- 加入700 $\mu$ l漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇），12000rpm离心30-60s，弃滤液。
- 重复步骤7一次，12000rpm离心30-60s，弃滤液。
- 空柱12000rpm离心2min，室温放置3-5min，除去残留乙醇。
- 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加60-100 $\mu$ l洗脱缓冲液EB，室温放置1min，12000 rpm 离心1min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20 $^{\circ}$ C保存。洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果需要质粒浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于50 $\mu$ l，体积过小降低质粒洗脱效率，减少质粒产量。