

高纯质粒小量制备试剂盒（离心柱型）

50T WLA040a 100T WLA040b

Wanleibio



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 (50T)	WLA040b (100T)	保存条件
RNase A	200 μ l (10mg/ml)	400 μ l (10mg/ml)	-20°C
溶液P1	15ml	30ml	4°C
溶液P2	15ml	30ml	室温
溶液P3	20ml	40ml	室温
去蛋白液PE	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°C保存。如果溶液P1中RNase A失活，提取的质粒可能会混有微量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°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 μ 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 μ 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！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 μ 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 μ 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 α 等缺陷性菌株，核酸酶含量低，则可略过此步骤。
- 加入700 μ 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 μ l洗脱缓冲液EB，室温放置1min，12000rpm离心1min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20°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 μ l，体积过小降低质粒洗脱效率，减少质粒产量。