



超快质粒小量提取试剂盒（柱离心型）

(Plasmid Minutespin Kit)

产品说明：

质粒提取过程通常需要经过离心收取菌体、重悬、裂解和离心清除杂质等一系列步骤，费时费力。本试剂盒采用独特技术，省略了这些步骤，直接裂解培养菌液，进入柱离心过程，极大提高了提取速度。单个样品从过夜培养菌液到获得质粒溶液最快仅需5分钟，多个样品约需10~20分钟。高拷贝的400 μ l菌液可获得质粒DNA约1~3 μ g，主要应用于质粒的快速鉴定如电泳、酶切、PCR扩增。

产品内容与储存方法：

名称	数量	保存条件
Buffer PL（裂解液）	4 ml	4 $^{\circ}$ C
Buffer PB（结合液）	40 ml	RT
Buffer PW（洗涤液）*	20 ml	RT
Elution Buffer（洗脱液）	5 ml	RT
离心柱及套管	100 套	RT

试剂盒可作100次质粒小量提取。 *Buffer PW（洗涤液）在首次使用时加入无水乙醇80 ml混匀。常温运输，室温或4 $^{\circ}$ C保存。有效期6个月。

所需其它试剂：

使用者需准备加入Buffer PW（洗涤液）的无水乙醇。

操作方法：

- 菌液裂解：**向盛有400 μ l菌液的1.5 ml离心管中加入40 μ l Buffer PL（裂解液），快速颠倒、吹打或震荡混匀2~3 sec。处理多个样品时，可先向系列1.5 ml离心管中加入40 μ l Buffer PL（裂解液），再依次加入400 μ l不同菌液混匀。通常菌液会在30 sec~1 min裂解形成均匀略粘稠的清亮液体。延长裂解时间不要超过5 min。
- DNA结合：**向裂解菌液中加入400 μ l Buffer PB（结合液），轻轻颠倒离心管15~20次以充分混匀。将混匀液体转移（用加样器转移或直接倾倒）至插入套管的离心柱内，于台式离心机上高速离心1 min。如裂解菌液较粘稠，可延长离心时间使其完全离下。弃去套管内废液，再将离心柱插回套管。
- 清洗：**向离心柱内加入Buffer PW（洗涤液）700 μ l，高速离心20 sec，弃去套管内废液，将离心柱插回套管。
- 再清洗：**此步骤可省略，直接进行步骤5。向离心柱内加入Buffer PW（洗涤液）200 μ l，高速离心1~2 min甩干。
- 收离心柱：**高速离心1~2 min甩干后，小心取出离心柱，不要沾上套管内的废液。弃去套管。
- 洗脱DNA：**将离心柱插入一个新的1.5 ml离心管，在离心柱内硅胶膜中心位置加入

30~50 μ l Buffer PE（洗脱液），注意不要触及硅胶膜；高速离心1 min，离心管中即得纯化的质粒DNA溶液。

- 7) 获得的质粒DNA溶液，可直接应用于后续实验中，或保存于-20℃备用。

注意事项：

- 1) 质粒DNA溶液的含量依赖于质粒拷贝数和扩增效率。低拷贝质粒DNA溶液的含量较低。
- 2) 培养菌液菌量太多时，可能因裂解后粘稠造成过柱离心的困难，所以建议用普通LB培养液过夜培养，不要用富养培养基。
- 3) 省略步骤4，通常对纯化结果没有影响，但有时DNA溶液中会残留微量盐分。
- 4) 洗脱的质粒DNA溶液可能残留100bp左右的小分子量RNA，但通常不影响后续鉴定工作。
- 5) 质粒DNA溶液浓度低时，如需酶切鉴定，应尽量提高酶切体系中质粒DNA溶液的体积。