

EasyPure® Plasmid MiniPrep Kit 质粒小提试剂盒

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EM101

版本号: Version 2.0

保存: 试剂盒在 15°C-30°C 温度下干燥保存一年。

产品说明

本试剂盒采用改良的碱裂解法裂解大肠杆菌细胞, 利用硅胶膜离心柱特异地吸附DNA, 适用于从 ≤ 20 ml LB 培养基培养的大肠杆菌细胞中高效地提取质粒DNA, 最大提取量可达 40 μg。溶液包含指示剂, 通过颜色的变化, 指示裂解、中和是否完全, 从而保证质粒提取的质量, 实现操作的可视化。提取的质粒DNA 适用于酶切、连接、转化、测序等实验。

试剂盒组成

Component	EM101-02 (200 rxns)
Resuspension Buffer (RB)	60 ml
Lysis Buffer (LB, Blue)	60 ml
Neutralization Buffer (NB, Yellow)	80 ml
Wash Buffer (WB)	2×20 ml
Elution Buffer (EB)	10 ml
RNase A (10 mg/ml)	600 μl
Mini-Plasmid Spin Columns with Collection Tubes	2×100 each

操作步骤

使用前, 将RNase A加入RB中, 2-8°C 保存; 加不同体积100%乙醇到WB。

• 50 rxns (40 ml)

• 200 rxns (2×80 ml)

LB Media	RB	LB	NB
≤5 ml	250 μl	250 μl	350 μl
5~10 ml	500 μl	500 μl	700 μl
10~15 ml	750 μl	750 μl	1050 μl
15~20 ml	1000 μl	1000 μl	1400 μl

- 1、取过夜培养的菌液, 10,000×g离心1分钟, 去上清(尽量吸尽)。如菌液量过大, 可分多次离心收集。
- 2、根据上表, 加入无色溶液RB(含RNase A), 振荡悬浮细菌沉淀, 不应留有小的菌块。
- 3、根据上表, 加入蓝色溶液LB, 温和地上下翻转混合4-6次, 使菌体充分裂解, 形成蓝色透亮的溶液, 颜色由半透亮变为透亮蓝色, 指示完全裂解(不宜超过5分钟)。
- 4、根据上表, 加入黄色溶液NB, 轻轻混合5-6次(颜色由蓝色完全变成黄色, 指示混合均匀, 中和完全), 直至形成紧实的黄色凝集块, 室温静置2分钟。
- 5、12,000×g离心5分钟, 小心吸取上清加入离心柱中。12,000×g离心1分钟, 弃流出液。如上清体积大于800 μl, 可以分成多次加入柱中, 并同上离心, 弃流出液。
- 6、加入650 μl溶液WB, 12,000×g离心1分钟, 弃流出液。
- 7、12,000×g离心1-2分钟, 彻底去除残留的WB。
- 8、将离心柱置于一干净的离心管中, 在柱的中央加入30-50 μl EB或去离子水(pH>7.0)室温静置1分钟。(EB或去离子水在60-70°C水浴预热, 使用效果更好)。
- 9、10,000×g离心1分钟, 洗脱DNA, 洗脱出的DNA于-20°C保存。



注意事项

- 所有离心均在室温下进行。
- 加入LB或NB后，操作一定要温和，剧烈混合会导致基因组污染。
- 使用时，将试剂盒携带的RNase A全部加入到RB溶液中，混合均匀，2-8°C保存。
- 检查LB是否混浊，如有混浊，可在37°C水浴中加热几分钟，且使用后立即盖紧盖子，以免pH发生变化。
- 本试剂盒最大提取量40 μg。如质粒提取量低，可增加菌液量。
- RB, LB, NB的用量请严格参照说明书，菌体量过大会导致裂解不充分，影响质粒DNA的得率及纯度。
- 反应次数以5 ml菌液为一次反应计算。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V2.0-202306

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

