



单菌落质粒DNA提取试剂盒 Single Colony Plasmid Microprep Kit Catalog # ZP123

试剂盒内容:

试剂盒组成	ZP123-1(50T)	ZP123-2(100T)	ZP123-3(200T)
RNase A (10mg/ml)	60ul	150ul	300ul
溶液M1	6ml	15ml	30ml
溶液M2	6ml	15ml	30ml
溶液M3	8ml	20ml	40ml
漂洗液W2	15ml	2×15ml	2×30ml
洗脱缓冲液TE	15ml	15ml	15ml
微量质粒吸附柱 MC	50个	100个	200个
收集管(2 ml)	50个	100个	200个
说明书	1份	1份	1份

储存条件:

本试剂盒在室温(15-25°C)干燥条件下, 可保存1年; 更长时间的保存可置于2-8°C。若溶液产生沉淀, 应在使用前置于37°C下溶解沉淀。单独包装的RNase A 在-20°C可稳定保存1年以上。加入RNase A后的溶液M1应置于2-8°C保存, 可稳定保存半年以上。

产品简介:

本试剂盒采用碱裂解法裂解细菌, 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。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料, 高效、专一吸附微量DNA。本说明书操作步骤适用于从0.1ml过夜培养的大肠杆菌LB (Luria-Bertani) 培养液中或者是单菌落中, 快速提取多至500ng纯净的高拷贝质粒DNA。

使用本试剂盒提取的质粒DNA可适用于各种常规操作, 包括PCR、转化等。

注意事项: 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项!

1. 溶液M1按照标签要求加RNaseA后, 混匀, 置于2-8°C保存备用。
2. 漂洗液W2按照标签要求加无水乙醇, 混匀后才可使用。
3. 使用前请先检查溶液M2和溶液M3是否出现浑浊, 如有混浊现象, 可在37°C水浴中加热几分钟, 即可恢复澄清。
4. 注意不要直接接触溶液M2和溶液M3, 使用后应立即盖紧盖子。
5. 所有离心步骤均为使用常规台式离心机室温下进行离心, 速度为12,000 rpm (~13,400×g)。
6. 提取的质粒量与细菌培养浓度、质粒拷贝数等因素有关。



操作步骤: (试用装溶液M1已加入RNaseA, 漂洗液W2已加入无水乙醇, 直接使用。)

1. 在离心管中加入100 μ l溶液M1(加入RNaseA后使用), 使用10ul吸头挑取单菌落, 吹打混悬。
注意: 溶液M1按照标签加RNaseA, 试用装的溶液M1已加RNaseA, 直接使用即可。
2. 向离心管中加入100 μ l溶液M2, 温和地上下翻转6—8次使菌体充分裂解。
注意: 温和地混合, 不要剧烈震荡, 以免打断基因组DNA, 造成提取的质粒中混有基因组DNA片断。此时菌液应变得清亮粘稠, 所用时间不应超过5分钟, 以免质粒受到破坏。如果未变得清亮, 可能由于菌体过多, 裂解不彻底, 应当减少菌体量。
3. 向离心管中加入140 μ l溶液M3, 立即温和地上下翻转6-8次, 充分混匀; 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心2分钟, 此时沉淀在离心管底部。
注意: 1、溶液M3加入后应立即混合, 避免产生局部沉淀。
2、样品量少可能不出现明显沉淀现象。
4. 将上一步的上清液用移液器转移或者是直接倒入微量吸附柱中 (吸附柱放入收集管中)。
12,000 rpm (13,400 \times g) 离心20秒, 倒掉收集管中的废液, 将微量吸附柱放回收集管中。
5. 可选步骤: 向吸附柱中加入500 μ l去蛋白液W1, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心30-60秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。如果宿主菌是end A+宿主菌 (TG1, BL21, HB101, JM系列, ET12567等), 这些宿主菌含有大量的核酸酶, 易降解质粒DNA, 推荐采用此步。此步骤可能会影响质粒的得率, 如果宿主菌是endA-宿主菌(DH5 α , TOP10等), 这步可省略。
注意: 去蛋白液W1 本试剂盒不主动提供, 客户有需要可联系公司匹配。
6. 向吸附柱中加入500 μ l 漂洗液W2 (加入无水乙醇后使用), 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心5-10秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放入收集管中。
注意: 漂洗液W2按照标签加无水乙醇, 试用装的漂洗液W2已加无水乙醇, 直接使用即可。
7. 向吸附柱中加入500 μ l漂洗液W2, 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心5-10秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放入收集管中。
8. 将吸附柱放入收集管中, 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心1分钟, 将吸附柱中残余的漂洗液去除。
注意: 漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应 (酶切、PCR等) 实验。为确保下游实验不受残留乙醇的影响, 建议将吸附柱开盖, 置室温放置数分钟, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
9. 将吸附柱置于一个干净的离心管中, 向吸附膜的中间部位滴加10 μ l洗脱缓冲液TE, 室温放置1分钟, 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心1分钟将质粒溶液收集到离心管中。
注意: 1、洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液, 应保证其pH值在7.0-8.5范围内 (可以用NaOH将水的pH值调到此范围), pH值低于7.0会降低洗脱效率。
2、洗脱缓冲液体积不应少于5 μ l, 体积过小影响回收效率。且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C, 以防DNA降解。