

# 质粒提取试剂盒-微量

## 说明书

组份	编号	ZD-TG-31-50
微量离心柱		50 个/包×1
1.5ml 离心管		50 个/包×1
溶液 PA		12ml/瓶×1
溶液 PB		12ml/瓶×1
溶液 PC		12ml/瓶×1
RNase A		120 $\mu$ l /管×1 (10mg/ml)
溶液 TE		4ml/瓶×1
说明书		1 份

### 存储和稳定性

- RNase A 长期保存置于-20 $^{\circ}$ C。添加过 RNaseA 的溶液 PA 置于 2~8 $^{\circ}$ C 保存。其它试剂室温避光保存。
- 保质期：12 个月，添加 RNaseA 的溶液 PA 2~8 $^{\circ}$ C 保存 6 个月。

### 产品介绍

重鼎生物是Takegene<sup>®</sup>无胍盐质粒纯化系统的发明者。目前广泛应用的硅胶吸附DNA纯化技术需要使用有毒蛋白变性剂胍盐。DNA产物中存在的痕量胍盐会影响下游的实验如酶切，转化，测序和连接等。Takegene<sup>®</sup>无胍盐质粒纯化系统有如下的优良特性：

- 高纯度的纯化质粒 DNA。既没有胍盐残留，也没有离子交换树脂脱落物的残留，提高了测序、连接、转化和酶反应效率。
- 操作方便，费时少。

### 使用前说明

- 观察溶液 PB 是否有沉淀。室温过低溶液 PB 出现沉淀时，40 $^{\circ}$ C~50 $^{\circ}$ C 水浴 10min，溶液澄清后摇匀使用。
- 首次使用前，从盒中取出 RNase A 管，短暂离心后将酶液全部移入溶液 PA 瓶中，混匀后标记备用（**注意：添加过 RNaseA 的溶液 PA 需 2~8 $^{\circ}$ C 保存。**）1 管 RNase A 用于 1 瓶溶液 PA。
- 产品单次最多可提取 10 $\mu$ g 质粒。高拷贝质粒推荐菌液用量为 0.5-1ml。低拷贝质粒需加大菌液用量。
- **细菌过多或过少时，根据收集细菌体积调整溶液 PA、PB、PC 及无水乙醇的用量：**先估算离心后的细菌沉淀体积，PA 用量为菌沉淀体积的 10~15 倍，溶液 PA、PB、PC 和无水乙醇用量比为 1: 1: 1: 0.5。
- 离心均室温进行，低温不利于去除 RNA。
- 用户自备试剂：80%乙醇（v/v）。

## 提取步骤

1. 取细菌过夜培养液(高拷贝质粒)0.5~1ml, 12000×g 离心 30sec。弃去上清液。向沉淀中加入 100μl 溶液 PA, 充分混悬细胞。
2. 加入 100μl 溶液 PB, 上下颠倒使液体充分混匀, 室温放置 2~3min。

注: 放置时间越短超螺旋 DNA 比例越高。当溶液变澄清时说明细胞已充分裂解。勿超过 5min, 当超过 5min 仍未澄清时说明裂解液用量太少。

3. 加入 100μl 溶液 PC, 颠倒混匀。加入 50μl 无水乙醇, 颠倒混匀。最高转速 (≥12000×g) 离心 5min。
4. 将上清液移入套有收集管的微量离心柱中(小心操作, 勿吸入絮状物), 5000×g 离心 2min。取出离心柱后弃去收集管中废液, 将离心柱放回收集管中。  
注: 本步及后续步骤中离心后如发现微量柱中有液体残留时, 需增加转速再次离心使液体全部滤过。
5. 将 80%乙醇 200μl 移入离心柱中, 5000×g 离心 1min。弃去收集管中废液, 将离心柱放回。
6. 12000 ×g 离心 2min。
7. 将离心柱从收集管中取出, 放入 1.5ml 离心管 (使用前将离心管柄处按包装袋上示意图做弯折处理) 中。向柱中加入 5~20μl

溶液 TE, 室温放置 2~3min。12000×g 离心 1min。质粒即收集在离心管中。

注: 将溶液 TE 加热至 50~60℃时使用可提高洗脱效率。

问题	原因	解决办法
得率低	细菌裂解不完全	加入 <b>溶液PB</b> 之前用移液枪头或在旋涡混合器上充分混悬细菌
	大肠杆菌生长过度或不新鲜	大肠杆菌培养勿超过 <b>12-16</b> 小时。将细菌离心沉淀后如不马上纯化保存于 <b>-20℃</b> 。不要放在 <b>4℃</b> 过夜
	低拷贝质粒	使用更多的细菌培养液。 <b>溶液PA、PB、PC</b> 的用量加倍
无质粒DNA	抗菌素失效, 大肠杆菌丢失质粒	重新培养
基因组DNA污染	加 <b>溶液PB</b> 后放置时间太久	加 <b>溶液PB</b> 后混合时不要太激烈。放置不要超过 <b>5</b> 分钟
RNA 污染	忘了加 <b>RNase A</b>	首次使用前向 <b>溶液PA</b> 中加 <b>RNase A</b>
电泳时质粒DNA漂浮出加样孔	离心柱中有乙醇残留。	步骤“ <b>6</b> ”不可省略

## 宁波市重鼎生物技术有限公司

主页: <http://www.genepure.com>

电话: 4008780133