

质粒 DNA 提取试剂盒-96 孔板说明书

产品介绍

重鼎生物是 Takegene®无胍盐质粒纯化系统的发明者。目前得到广泛应用的所有基于硅胶吸附的 DNA 纯化技术的共同缺点是需要使用有毒的蛋白变性剂胍盐。使用胍盐不但污染环境、危害操作人员健康而且 DNA 产物中存在的痕量胍盐还会影响下游的实验例如：酶切，转化，测序和连接等等。

基于重鼎生物技术有限公司专利技术 Takegene®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。
- 由于极大地提高了 DNA 的亲合力使得率大大提高。使用 Takegene® Plasmid Maxiprep kit 最高可以从 100ml 大肠杆菌过夜培养液中获得高达 1000 μ g 的 DNA。
- 操作方便，费时少。使用 Takegene® Plasmid Megaprep kit 制备 10mg 质粒 DNA 只需要 1.5-2 小时。耗费时间大大少于使用离子交换树脂法。
- 由于在产物 DNA 中没有胍盐及脱落树脂残留，提高了测序、连接、转化和酶反应效率。
- 试剂盒中不含危害健康及污染环境的化学物质。

存储和稳定性

试剂盒中除 RNase A 需要-20 $^{\circ}$ C 保存外，其它试剂可常温保存。
试剂盒保质期 12 个月

试剂盒组成

Catalog Number	ZD-TG-35-02	ZD-TG-35-04
96 孔板	2 块	4 块
洗液板	2 块	4 块
收集板	2 块	4 块
溶液 PA	50ml/瓶 \times 1	50ml/瓶 \times 2
溶液 PB	50ml/瓶 \times 1	50ml/瓶 \times 2
溶液 PC	50ml/瓶 \times 1	50ml/瓶 \times 2
RNase A	0.55ml/管 \times 1	0.55ml/管 \times 2
溶液 TE	24ml/瓶 \times 1	24ml/瓶 \times 2
说明书	1 份	1 份

使用前准备

- 观察溶液 PB 是否有沉淀，室温过低时溶液 PB 会出现沉淀，37 $^{\circ}$ C-60 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟后即可重新澄清，不影响使用。
- 打开试剂盒，取出其中的 RNase A，10000g 离心 10 秒后，将其加入溶液 PA 试剂瓶中混匀，放置 4 $^{\circ}$ C 待用。1 管 RNaseA 用于 1 瓶溶液 PA。
- 洗脱 DNA 前加热溶液 TE 至 50~60 $^{\circ}$ C，有利洗脱。
- 全部离心都在室温进行。
- 溶液 PA、PB、PC 的使用比率是 1：1：1。菌液量与 PA 的比例是 1:15~20。
- 用户自备试剂：85% 乙醇

提取步骤

1. 取 1~5ml (高拷贝质粒)大肠杆菌过夜培养液于离心管 12000rpm 离心 30 秒, 弃上清液。
2. 向沉淀中加入 200 μ l 溶液 PA, 充分混悬细胞。
3. 加入 200 μ l 溶液 PB, 上下颠倒试管, 使之充分混匀, 室温静置 2~3 分钟 (静置时间越短超螺旋 DNA 比例越高)。当溶液变澄清时说明细胞已被充分裂解 (勿超过 5 分钟, 当超过 5 分钟仍未澄清时说明裂解液数量太少)。
4. 加入 200 μ l 溶液 PC 充分混匀, 15000rpm (10000 \times g) 离心 5 分钟。
5. 将 96 孔板尖头向下套入洗液板中。将步骤“4”上清液转入 96 孔板中, 最高转速 (4000g) 离心 5 分钟。取出 96 孔板然后弃去洗液板中溶液, 将 96 孔板放回洗液板。
6. 每个样品孔中加入 550 μ l 85%乙醇, 最高转速 (4000g) 离心 5 分钟。取出 96 孔板然后弃去洗液板中溶液, 将 96 孔板放回洗液板。
7. 最高转速 (4000g) 离心 10 分钟。弃去洗液板。
8. 将 96 孔板取出, 尖头向下套入收集板中, 向每个样品孔中加入 50~100 μ l 预热到 50~60 $^{\circ}$ C 的溶液 TE, 静置 2~3 分钟后, 最高转速 (4000g) 离心 5 分钟。DNA 溶液即在收集板中。

问题	原因	解决办法
得率低	细菌裂解不完全	加入 溶液PB 之前用移液枪头或在旋涡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 12-16 小时。将细菌离心沉淀后如不马上纯化保存于 -20$^{\circ}$C 。不要放在 4$^{\circ}$C 过夜
	低拷贝质粒	使用更多的细菌培养液。 溶液PA、PB、PC 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 溶液PB 后放置时间太久	加 溶液PB 后混合时不要太激烈。放置不要超过 5 分钟
RNA 污染	忘了加 RNase A	在步骤“ 2 ”往 溶液PA 中加 RNase A
电泳时质粒DNA漂浮出加样孔	离心柱中有乙醇残留。	步骤“ 7 ”不可省略

宁波市重鼎生物技术有限公司

电话: 0574-88024486

传真: 0574-88024536

主页: www.genepure.com

QQ: 239202082