

质粒提取试剂盒-中量

说明书

组分 \ 编号	ZD-TG-38-10	ZD-TG-38-20	ZD-TG-38-40
中量离心柱	10 个/包×1	10 个/包×2	10 个/包×4
15ml 离心管	10 个/包×1	10 个/包×2	10 个/包×4
溶液 PA	30 ml/瓶×1	65 ml/瓶×1	130ml/瓶×1
溶液 PB	30 ml/瓶×1	65 ml/瓶×1	130 ml/瓶×1
溶液 PC	30 ml/瓶×1	65 ml/瓶×1	130 ml/瓶×1
RNase A	180μl /管×1 (10mg/ml)	360μl /管×1 (10mg/ml)	750μl /管×1 (10mg/ml)
溶液 TE	6 ml/瓶×1	12 ml/瓶×1	20ml/瓶×1
说明书	1 份	1 份	1 份

产品介绍

重鼎生物是Takegene®无胍盐质粒纯化系统的发明者。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。无胍盐残留，无离子交换树脂脱落物残留。
- 提高了离心柱对质粒的亲合力使吸附的质粒量大大提高。
- 操作方便，费时少。

存储和稳定性

- RNase A 长期保存应置于-20℃。其它试剂室温避光保存。
- 保质期：12 个月。

使用前说明

- 首次使用前，阅读说明书熟悉实验步骤及注意事项。
- 每次使用前观察溶液 PB 是否有沉淀。室温过低溶液 PB 出现沉淀时，40℃~60℃水浴至溶液澄清，摇匀后使用。
- 产品一次最多可提取 200μg 质粒。高拷贝质粒推荐菌液用量为 10~25ml。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、无水乙醇及 RNaseA 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，溶液 PA 中 RNaseA 工作浓度为 50-100μg/ml。
- 自备试剂：80%乙醇（V/V）、无水乙醇。
- 离心均室温进行，低温离心不利于去除 RNA。

提取步骤

1. 取大肠杆菌过夜培养液(高拷贝质粒)5~25ml, 8000×g 离心 5min。弃上清液。向沉淀中加入溶液 PA 1.6ml 及 RNase A 16μl, 充分混悬细胞。
2. 加入溶液 PB 1.6ml, 上下颠倒使液体充分混匀, 室温放置 2~3min。
注: 混匀时不可涡旋剧烈震荡, 以免基因组 DNA 污染。放置时间越短超螺旋 DNA 比例越高。当液体澄清粘稠时表明细胞已充分裂解, 可进行下一步。放置时间不要超过 5min。当放置 5min 后液体仍未澄清表明菌体过多裂解不彻底。
3. 加入溶液 PC1.6ml, 上下颠倒使液体充分混匀(如溶液存在发粘拉丝现象说明未充分混匀)。加入 0.8ml 无水乙醇, 颠倒充分混匀。最高转速(≥8000×g) 离心 5min。
4. 将上清液移入套有收集管的离心柱中(小心操作, 勿吸入絮状物), 8000×g 离心 2min。弃去收集管中废液, 将离心柱放回收集管中。
5. 将 80%乙醇(自备) 5ml 移入离心柱中, 8000×g 离心 2min。取出离心柱后弃去收集管中废液, 将离心柱放回。
6. 将无水乙醇(自备) 5ml 移入离心柱中, 8000×g 离心 1min。取出离心柱后弃去收集管中废液, 将离心柱放回。
7. 最高转速(≥8000×g) 离心 10min。将离心柱取出后放入新的 15ml 离心管中, 敞口放置 5~10min(去除残留的乙醇)。
8. 加入溶液 TE 300μl(预热至 50~60℃时使用可提高洗脱效率), 室温放置 2~3min。最高转速(≥8000×g) 离心 5min。质粒溶液即收集在离心管中。
注 1): 推荐先用溶液 TE 300μl 洗脱一次, 再用 200μl 洗脱一次, 合并两

次洗脱液。

下表为中量柱用不同体积的溶液 TE 多次洗脱鱼精 DNA 的效率(供参考)。

洗脱顺序	溶液 TE 体积	洗脱效率
第 1/2/3 次	300/200/500μl	79%/12%/9%

注 2) 可选用纯水(自备)进行洗脱。纯水 pH 值不低于 7, 且 DNA 产物应于 -20℃ 保存以防降解。

问题	原因	解决办法
得率低	细菌未充分裂解	加入 溶液PA 后充分混悬细菌
	大肠杆菌过度生长或保存不当	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℃ 。不要放在 4℃ 过夜
	低拷贝质粒	使用更多的细菌培养液。 溶液PA、PB、PC 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 5min
RNA 污染	未加 RNase A	步骤“ 2 ”中加入 RNase A
电泳时质粒漂浮出加样孔	离心柱中有乙醇残留	步骤“ 9 ”中延长敞口放置时间

宁波市重鼎生物技术有限公司

主页: <http://www.genepure.com>

电话: 4008780133