

描述: HaiGene 质粒小量提取试剂盒采用了一种新型的离子交换柱,在特定条件下,使质粒能在离心过柱的瞬间结合到质粒纯化柱上,在一定条件下又能将质粒充分洗脱,从而实现质粒的快速纯化。该试剂盒采用改进的质粒抽提系统,彻底解决了 RNA 污染的问题。新型的离子交换柱具有高达 40 μg 的结合能力,每个纯化柱可用于抽提 1~5 ml LB 培养过夜的大肠杆菌菌液,抽提所得的质粒的 OD 值一般在 1.80 左右。由本试剂盒抽提所得的质粒可直接用于转化、DNA 测序、PCR、基于 PCR 的突变、体外转录、酶切等。

组分

名 称	50T
RnaseA(5 mg/ml)	1 ml
Buffer S1(重悬液)	12 ml
Buffer S2(裂解液)	15 ml
Buffer S3(结合液)	20 ml
Washing Buffer(含乙醇)	55 ml
Nuclease Free H ₂ O	6 ml
吸附柱芯(NP30)	50 套
2 ml 吸附柱外套管	50 套
1.5 ml 收集管	50 套

注意事项:

- 1.1 Washing Buffer 中含有 70%乙醇,使用时远离火源。
- 1.2 首次使用 Buffer S1 时应加入 1 ml 的 RNase A 并做好标记。加入 RnaseA 后的 BufferA 请于 4°C 或-20°C 保存。
- 1.3 如 Buffer S2 出现沉淀,可 50°C 加热溶解。
- 1.4 整套吸附柱的准备:提前将吸附柱芯放入到 2 ml 吸附柱外套管中,待用。
- 1.5 5 mg/ml 的 RNaseA 溶液,在室温条件下可保存 3 个月,长期保存请于-20°C 保存,其它组分室温保存。有效期为 2 年。

操作方法

- 2.1 取过夜培养的菌液 1.8 ml 加入到 2 ml EP 管中,13,000rpm 室温离心 1min 后收集细菌沉淀。倒掉上清液,可再次加入菌液 1.8 ml,离心后去除上清液。
- 2.2 每管加入 250 μl Buffer S1 (确认已加入 RNaseA),用吸头吹打菌体沉淀至无可见团块,以确保沉淀完全散开。
- 2.3 每管加入 250 μl Buffer S2,轻轻颠倒离心管 4-6 次,室温放置 2~5min,使细菌完全裂解,溶液应变的透明。切勿剧烈振荡,否则会导致基因组 DNA 断裂,从而导致所得质粒被基因组 DNA 污染。
注意: 加入 Buffer S2 后,务必室温至少放置 2 分钟,当菌体量较多时,应放置 5 分钟,以使 RNase A 充分发挥作用。
- 2.4 每管加入 350 μl Buffer S3,颠倒离心管 4-6 次混匀,可见白色絮状物产生。置于离心机上 13,000rpm 离心 10min。
- 2.5 将上一步骤离心后的上清倒入吸附柱芯中(步骤 1.5),离心 10s,倒弃收集管内液体。
注意: 柱芯中切勿倒入白色沉淀,否则会堵塞。
- 2.6 向吸附柱芯中加入 500 μl Washing Buffer,离心 10s,倒弃收集管内液体。重复步骤一次。
- 2.7 将吸附柱芯重新放入套管中,空离心 2min。将乙醇彻底甩干。
- 2.8 将吸附柱芯置于新的 1.5 ml 收集管上,加入 80-100 μl 的 Nuclease Free H₂O 至柱芯上,放置 2min。13,000rpm 室温离心 1min,所得液体即为高纯度质粒。