



QuickPure Plasmid Mini Kit

快速质粒小提试剂盒

目录号：CW2619S (50 preps)
CW2619M (200 preps)

保存条件：室温 (15-30°C)

产品内容

Component	CW2619S 50 preps	CW2619M 200 preps
Buffer L2	6 mL	25 mL
Buffer N3	20 mL	80 mL
Buffer PB	10 mL	35 mL
Buffer PW (concentrate)	6 mL	25 mL
Buffer EB	10 mL	30 mL
RNase A (10 mg/mL)	200 μ L	800 μ L
Spin Columns DM With Collection Tubes	50	200

产品简介

本试剂盒最大特点：简单快速、提取量高。整个提取过程不超过10分钟，不需要离心收集细菌和重悬菌体，直接在培养好的菌液中加入独特的超强裂解液Buffer L2，随后中和、离心过柱，提取出的质粒可高达30 μg ，并最大限度去除蛋白质、基因组等其它杂质。提取出的质粒DNA可直接用于细菌转化、酶切、PCR、体外转录、测序等其它下游实验。

自备试剂：无水乙醇。

实验前准备及重要注意事项

1. 第一次使用前，将RNase A溶液全部加入到Buffer N3中，混匀，置于2-8 $^{\circ}\text{C}$ 保存。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在Buffer PW中加入无水乙醇。
3. 使用前若Buffer L2有沉淀，请置于37 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中不断混匀直至溶液变澄清方可使用。

操作步骤

1. 取600 μL 细菌培养液到1.5 mL离心管(自备)中。
2. 向上述离心管中加入100 μL Buffer L2, 温和地上下颠倒溶液8次, 溶液应由浑浊变为澄清的紫色, 表明裂解完全。裂解时间不应超过2分钟。
3. 向上述离心管中加入350 μL Buffer N3 (请先检查是否已加入RNaseA), 立即上下颠倒约8-10次充分混匀, 此时溶液应完全变为黄色并有黄色沉淀形成。13,000 rpm离心2-3分钟。
4. 将步骤3中所得上清液缓慢倒入已备好的吸附柱 (Spin Columns DM with Collection Tubes) 中, 避免沉淀进入吸附柱。
5. 13,000 rpm离心15秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入150 μL Buffer PB, 13,000 rpm离心15秒。
7. 向吸附柱中加入400 μL Buffer PW (请先检查是否已加入无水乙醇), 13,000 rpm离心1分钟。
8. 将吸附柱置于一个新的离心管(自备)中, 向吸附膜的中间部位加入30-100 μL Buffer EB, 13,000 rpm离心1分钟, 收集质粒DNA, -20°C 长期保存。

当提取菌液量>600 μL 时, 可用如下操作步骤:

1. 本试剂盒提取菌液可多至3 mL, 若提取的菌液量>600 μL 时,需先将超出600 μL 的菌液13,000 rpm离心30秒(收集菌体), 弃上清后再加入600 μL 菌液, 将管底的菌体彻底重悬后接下面操作。
2. 向上述离心管中加入100 μL Buffer L2, 温和地上下颠倒溶液10次, 若溶液不澄清, 需继续颠倒混匀, 直至溶液变为澄清的紫色, 裂解时间不应超过2分钟。(若溶液仍有浑浊现象说明菌体量过大, 需适量减少菌体量。)
3. 向上述离心管中加入350 μL Buffer N3 (请先检查是否已加入RNaseA), 立即上下颠倒充分混匀, 直至紫色溶液完全变为黄色并有黄色沉淀形成, 方可进行下一步操作。13,000 rpm离心5分钟。
4. 将上清转移到新的离心管中, 加入200 μL 异丙醇, 上下颠倒混匀数次, 混匀后转入吸附柱 (Spin Columns DM with Collection Tubes) 中, 由于溶液量过大, 此时需分两次过柱离心, 13,000 rpm离心15秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
5. 向吸附柱中加入150 μL Buffer PB, 13,000 rpm离心15秒。
6. 向吸附柱中加入400 μL Buffer PW (请先检查是否已加入无水乙醇), 13,000 rpm离心1分钟。
7. 将吸附柱置于一个新的离心管(自备)中, 向吸附膜的中间部位加入50-200 μL Buffer EB, 室温放置2分钟, 13,000 rpm离心1分钟, 收集质粒DNA, -20°C 长期保存。