

描述: 海基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	数量
Buffer A(重悬液)	25 ml
Buffer B(裂解液)	25 ml
Buffer C(结合液)	35 ml
Washing Buffer(洗涤液)	20 ml
Elution Buffer(洗脱液)	10 ml
RNaseA(20 mg/ml)	0.5 ml
吸附柱及套管	100 套

注意事项:

- 首次使用 Washing Buffer(洗涤液)时应加入 80ml 无水乙醇并混匀,请及时做好标记,首次使用 Buffer A 时应加入 0.5ml 的 RNase A 并做好标记。
- 如 Buffer B 出现沉淀,可 50°C 加热处理至沉淀溶解后仍可使用,不影响试验结果。

储存:

请将 RNase A 置于-20°C 保存,其他组分室温避光保存,可保存两年。

操作方法

- 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。
- 每管加入 250 μl Buffer A (确认已经加入 RNase A),用吸头吹打沉淀菌体至无可见细菌团块,以确保沉淀完全散开。
- 每管加入 250 μl Buffer B,轻轻颠倒离心管 4-6 次,室温放置 2 分钟,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。
- 每管加入 350 μl Buffer C,随即颠倒离心管 4-6 次混匀(切勿剧烈振荡),可见白色絮状物产生,室温静置 1min。
- 手腕用力上下振荡 4-6 次,使白色絮状物振散,然后置于离心机上 13,000rpm 室温离心 10min。
- 将上一步骤离心后的上清倒入或吸入到质粒纯化柱内,13,000rpm 离心 30s,倒弃收集管内液体。(切勿吸入白色沉淀,否则会堵塞离心柱)。
- 在质粒纯化柱内加入 500 μl Washing Buffer(务必确认已加入无水乙醇),13,000rpm 室温离心 30s,洗去杂质,倒弃收集管内液体。
- 重复步骤 7 一次。
- 将吸附柱重新放入套管中,13,000rpm 室温空离心 2min。
- 将质粒纯化柱置于新的 1.5 ml 离心管上,静置 2min,使痕量乙醇完全挥发,加入 80-120 μl Elution Buffer 至管内柱面上,放置 1min。Elution Buffer 使用前最好 50°C 水浴预热。
- 13,000rpm 室温离心 2min,所得液体即为高纯度质粒。