

操作手册

快速质粒 DNA 小量提取试剂盒

Catalog No. TD436-50 (50 次反应) TD436-100 (100 次反应)
 TD436-200 (400 次反应)

Highlights

- 无需沉淀菌液，直接从培养菌液中提取质粒 DNA。
- 独有的显色反应，可以直接观察到细胞裂解中和的程度，极大方便操作者判断其状态。
- 获得的质粒产量高、纯度好，可以直接用于酶切、转化、PCR、体外转录、测序等各种分子生物学实验。

产品组成:

试剂盒组成	保存	50 次	100 次	400 次
质粒 DNA 裂解液 (蓝色)	室温	6ml	12ml	48ml
质粒 DNA 中和液 (黄色)	室温	20 ml	40 ml	160 ml
质粒 DNA 预洗液	室温	15 ml	30 ml	120 ml
质粒 DNA 洗涤液	室温	6 ml	12 ml	48 ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇		
质粒 DNA 洗脱液	室温	10ml	20ml	30ml
2 号柱	室温	50 个	100 个	400 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个	400 个

Note –售出后一年内产品质量是可以保证。试剂已经过大量的常规检测来保证其可操作性。此产品仅供研究并且需要由专业人员来使用。试剂盒中的部分试剂是有刺激性的。请带好手套和防护眼镜。

注意事项:

1. 环境温度低时溶液质粒 DNA 裂解液中 SDS 可能会析出沉淀，可在 37°C 水浴加热几分钟，即可恢复澄清，不要剧烈摇晃，以免形成过量的泡沫。
2. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
3. RNase A 已经添加到质粒 DNA 中和液中，请将中和液放置在 4-10° 保存，RNase A 的终浓度为 200ug/ml
4. 溶液质量DNA中和液含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，**避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。**

特性:

- **DNA 纯度:** 获得的质粒产量高、纯度好，可以直接用于酶切、转化、PCR、体外转录、测序等各种分子生物学实验。一般情况 $Abs_{260/280} \geq 1.8$ 。
- **质粒 DNA 产量:** 每次可提取到约 25 μg ，主要依据质粒的拷贝数，培养物的成长环境等因素。
- **质粒 DNA 大小:** 最高可达 25 kb。
- **洗脱体积:** $\geq 30 \mu\text{l}$ 。
- **操作温度:** 室温 (15-30°C)。

溶液制备: (使用之前需要配制)

- 10 次反应的 **质粒 DNA 洗涤液** 已经添加乙醇无需添加。
- 50 次反应的 **质粒 DNA 洗涤液** 应添加 24 ml 100%的乙醇 (26 ml 95%的乙醇) 到 6ml 的**质粒 DNA 洗涤液**中。
- 100 次反应的 **质粒 DNA 洗涤液** 应添加 48 ml 100%的乙醇 (52 ml 95%的乙醇) 到 12ml 的**质粒 DNA 洗涤液**中。
- 400 次反应的 **质粒 DNA 洗涤液**应添加 192ml 100%的乙醇 (208 ml 95%的乙醇) 到 48ml 的**质粒 DNA 洗涤液**中。

加入后请及时在方框打钩标记，以免多次加入!

操作步骤:

以下操作步骤均在室温下操作。乙醇已经添加到质粒DNA洗涤液中。
质粒DNA中和液使用前需要放置到4-10℃预冷。

1. 取 600 μ l 过夜培养的菌液直接添加到 1.5ml 离心管中。（最多可以处理 3ml 菌液，a.加入 1.5ml 菌液最大速度离心 30 秒， b.重复步骤 a， c.添加 600 μ l TE 重悬沉淀）
2. 添加 100 μ l 的质粒 DNA 裂解液到同一个 1.5ml 离心管中，温和地颠倒离心管数次使菌体充分裂解直到溶液完全变成蓝色。（操作此步时间一定要短并且避免剧烈震荡）
3. 添加 350 μ l 预冷的质粒 DNA 中和液到上述离心管中，立即温和地上下翻转数次，中和完全后会出现黄色絮状沉淀（反复颠倒数次确保中和完全，中和完全后溶液呈黄色）
4. 将上述 1.5ml 离心管放入离心机中，11,000 – 16,000 x g 离心 5 分钟。
5. 将上一步所得上清（~900 μ l）加入 2 号柱（柱套在收集管内），11,000 – 16,000 x g 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液。
6. 加入 200 μ l 质粒 DNA 预洗液，11,000 – 16,000 x g 离心 1 分钟，无需倒掉废液。
7. 加入 400 μ l 质粒 DNA 洗涤液（请先检查是否已加入无水乙醇!），11,000 – 16,000 x g 离心 1 分钟，弃掉废液。
8. 将收集管中的废液倒掉，并将 2 号柱套回收集管中，在 11,000 – 16,000 x g 下额外离心 2 分钟，尽量除去洗涤液，以免洗涤液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 取出 2 号柱，放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位加 30 μ l 质粒 DNA 洗脱液。（洗脱液事先在 65-70℃ 水浴中预热，洗脱效果更好），室温放置 2 分钟，11,000 – 16,000 x g 离心 1 分钟来洗脱质粒 DNA。