

超快速质粒 DNA 小量提取试剂盒

使用说明书 (版本号: Ver.0.0.2)

产品特点

- ✧ Pellet-Free 程序省略了传统的菌体沉淀与重悬步骤。
- ✧ 通过最快速，最简单的程序纯化，能够获得最高质量的无内毒素质粒 DNA。
- ✧ 创新的彩色缓冲液可实现对细菌细胞完全裂解与中和的视觉识别。

产品货号：

TD4036 (50 次反应)



扫描二维码了解更多产品信息

目录 Contents

产品组份	1
注意事项	1
产品描述	1
产品特性	2
溶液制备	2
操作步骤	3
FAQ 常见问题及解决方法	3
组件查询	5

产品组份

试剂盒组成	TD4036	保存
7X 裂解液（蓝）	6ml	室温
中和液（黄）	20ml	4-8℃
Endo-Free 洗涤液	15ml	室温
Pellet-Free 洗涤液（浓缩）	6ml	室温
质粒 DNA 洗脱液	5ml	室温
2 号 PX 纯化柱	50 个	室温
2ml 收集管	50 个	室温

注意事项

- ◇ 本产品自售出之日起提供一年质量保证。所有试剂均通过严格质量检测，确保性能稳定可靠。
- ◇ 本产品仅供专业研究人员在受控环境下使用。操作人员须佩戴防护手套及护目装置等个人防护装备，并严格遵守所在机构的安全操作规程。请注意，部分试剂可能具有刺激性，使用时需特别谨慎。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中，以防挥发、氧化或 pH 值变化，使用后请立即盖紧瓶盖，并按照说明书要求妥善储存。
- ◇ 7X 裂解液在运输过程中可能产生沉淀。为使缓冲液完全溶解，将瓶子置于 30 - 37℃ 孵育 30 分钟，然后倒置混合。请勿使用微波炉加热。
- ◇ 中和缓冲液中含有浓度为 200µg/ml 的 RNase A。
- ◇ 7X 裂解液含有 NaOH，中和液含有离液剂。请对这些试剂采取适当的安全措施。

产品描述

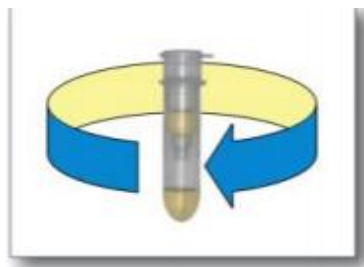
该 Pellet-Free 质粒提取试剂盒的特点是独有的改良碱性裂解方法，可省略常见的经典质粒制备过程中菌液离心和重悬步骤。只需将独特配方的 7X 裂解液直接添加到菌液中，中和，然后使用 MicroElute 柱进行纯化。此外，试剂盒中包含的创新彩色缓冲液允许对完整的细菌细胞裂解和中和进行可视化鉴定。

质粒提取试剂盒具备最快和最简单的方法,可以有效地从大肠杆菌中分离质粒 DNA。质粒 DNA 质量最高,不含内毒素,非常适合用于细菌转化、限制性内切酶酶切、DNA 连接、PCR、转录、测序和其他敏感的下游应用。

将裂解缓冲液直接加入大肠杆菌培养液中:



结合&洗涤:



中和:



洗脱:



产品特性

- ✧ DNA 纯度:质粒 DNA 非常适用于连接,测序,限制性内切酶酶切,体外转录和其他需要纯 DNA 的敏感应用。一般来说 $A_{260}/A_{280} \geq 1.8$ 。
- ✧ 质粒 DNA 产量:高达 25 μ g, (取决于质粒拷贝数,培养生长条件和菌种)。
- ✧ 质粒 DNA 大小:最高可达 25 kb。
- ✧ 洗脱体积: $\geq 30 \mu$ l。
- ✧ 操作温度:室温 (15-30 $^{\circ}$ C)。

溶液制备: (使用之前需要配制)

1. 在 6ml Pellet-Free 洗涤液-浓缩液(TD4036)中加入 24 ml 100%乙醇(26 ml 95%乙醇), 在 12ml Pellet-Free 洗涤液-浓缩液(TD4019)中加入 48 ml 100%乙醇(52 ml 95%乙醇), 或在使用前在 48ml Pellet-Free 洗涤液-浓缩液(TD4020 和 TD4037)中加入 192 ml 100%乙醇(208 ml 95%乙醇)。

2. 7X 裂解液可能在运输过程中产生沉淀。为了使沉淀完全溶解，将瓶子在 30 - 37°C 孵育 30 分钟，然后倒置混合。请勿使用微波炉加热。
3. 中和液使用前需提前预冷。

操作步骤

以下步骤在室温下进行。

1. 将 600µl LB 培养基培养的菌液加入 1.5 ml 离心管中。
Pellet-Free 质粒提取试剂盒还可以与经典的基于离心机的操作流程配合使用，用于处理体积高达 3ml 的菌液。
操作流程应修改如下：
1A)以最大速度离心 1.5 ml 细菌培养物 30 秒。
1B)丢弃上清。
1C)根据需要重复步骤 1A 和 1B。
1D)在细菌细胞沉淀中加入 600 µl TE 或水，完全重悬。
2. 加入 100µl 7X 裂解液 (蓝色)，倒置试管 4-6 次进行混合。在 2 分钟内进行步骤 3。
加入 7X 裂解液后，溶液应由混浊变为蓝色，表明完全裂解。
3. 加入 350µl 预冷中和(黄色)，充分混合。当中和完成后，样品会变成黄色，并形成淡黄色的沉淀物。再将样品倒置 2-3 次，以确保完全中和。
4. 11000 - 16000 x g 离心 2-4 分钟。
5. 将上清液(-900µl)转移到所提供的 2 号 PX 纯化柱中。应尽量避免取到沉淀。
6. 将纯化柱放入收集管，离心 15 秒。
7. 弃掉滤液，将纯化柱放回到收集管中
8. 向柱中加入 200µl Endo-Free 洗涤液。离心 30 秒。无需清空收集管。
9. 在纯化柱中加入 400µl Pellet-Free 洗涤液。离心 1 分钟。
10. 将纯化柱转移到干净的 1.5 ml 离心管中，然后将 30µl 质粒 DNA 洗脱液直接加入到柱基质中，在室温下静置 1 分钟。
11. 离心 30 秒，洗脱质粒 DNA。

FAQ 常见问题及解决方法

Q,问题	A,可能的原因和建议的解决方案
低产率	
培养条件	培养曝气量差：最佳培养体积与空气体积比为 1:4 或更小(20%培养，80%空气)。为了获得最佳的曝气效果，请使用具有隔板的培养瓶，在培养容器上使用透气性密封膜进行密封。

	培养基错误: LB 培养基可使用直接裂解法。其他培养基不推荐使用直接裂解, 但可以与经典的离心沉淀菌体一起使用。 其他可能的原因: 生长过度/生长不足或染菌, 以及培养基中没有添加抗生素。使用新鲜的培养基来获得最佳生长。培养到 OD 值 600 > 1.0。
流程错误	不完全裂解: 加入 7X 裂解液后, 溶液应从混浊变为蓝色透明, 表明完全裂解。不同的大肠杆菌菌株通常需要不同的生长条件, 对碱解的敏感性也可能不同。 不完全中和: 离心后细胞碎片会浮到表面, 沉淀可能会浮起。确保在离心前完成中和。在加入中和液样品变黄后, 再将试管翻转 2 - 3 次。
7X 裂解液中出现沉淀	7X 裂解液可能在运输过程中沉淀。为了使裂解液沉淀完全溶解, 将瓶子在 30 - 37°C 孵育 30 分钟, 然后颠倒混匀。请勿使用微波炉加热。
Pellet-Free 洗涤液	确保在洗涤液中加入乙醇。
DNA 洗脱	洗脱不完全: 对于长片段质粒 (> 10 kb), 离心前孵育 5 - 10 分钟。此外, 洗脱前将质粒 DNA 洗脱液预热至 50°C, 并增加洗脱量至 ≥50 µl。
DNA 质量低	
DNA 下游应用表现不佳	不完全中和: 不完全中和会产生质量差的上清, 并导致在纯化柱上加载过多的菌体。在加入中和液后, 再将样品颠倒 2 - 3 次, 确保中和完成。 纯化柱底部被洗涤液污染。在最后一个洗涤步骤后, 避免倾斜收集管, 以确保纯化柱尖端不接触弃液。根据方案建议, 清空收集管。 离心不彻底: 确保所有离心步骤在 11,000 - 16,000 x g 之间进行。如果使用较低的离心机速度, 则延长离心时间以进行补偿。
RNA 污染	确保中和液保存在 4 - 8°C。
含有基因组 DNA 污染	处理不当(样品呈旋涡状或处理过于粗暴): 基因组 DNA 污染通常是由于在裂解和中和过程中过度的机械剪切引起的。此外, 长时间裂解或不完全混合裂解/中和可能会导致样品中的基因组 DNA 污染。 杂菌污染: 老旧的菌液可能比新鲜的菌液含有更多的基因组 DNA 污染。

组件查询

组件名称	货号	规格	储存条件
7X 裂解液（蓝）	TD4036-1-6	6ml	室温
中和液（黄）	TD4036-2-20	20ml	4-8℃
Endo-Free 洗涤液	TD4036-3-15	15ml	室温
Pellet-Free 洗涤液（浓缩）	TD4036-4-6	6ml	室温
质粒 DNA 洗脱液	TD4200-7-5	5ml	室温
2 号 PX 纯化柱	TC1086-50	50 个	室温
2ml 收集管	TC1001-50	50 个	室温