



iPure 快速质粒小提试剂盒 I 型

(离心柱型)

产品编号	规格
K110-S	100 次
K110-L	250 次

提取得率

质粒类型	菌液量	得率
低拷贝	1-4ml	3-10 μ g
高拷贝	1-4ml	6-24 μ g

产品简介

本试剂盒采用改进的菌裂解buffer系统，裂解液离心2 min即可，并采用进口硅胶膜，高效地吸附DNA，从而达到快速提取质粒DNA。适合于从1-4 ml培养过夜的大肠杆菌（DH5 α ，JM109等）菌液中抽提高达24 μ g 高纯度的质粒DNA。本公司采用的硅胶膜能够高效、专一吸附DNA，提取的质粒DNA适用于如PCR、酶切、转化、测序等常规实验操作。

一、试剂盒组成、储存条件

试剂盒组成	保存	100 次	250 次
溶液 P1	4°C	25ml	65ml
溶液 P2	室温	25ml	65ml
溶液 P3	室温	35ml	90ml
漂洗液 WB	室温	30ml	2×40ml
洗脱液 EB	室温	15ml	30ml
RNaseA (10mg/ml)	-20°C	250µl	650µl
吸附柱 A1	室温	100 个	250 个
2ml 收集管	室温	100 个	250 个
说明书	室温	1 份	1 份

本试剂盒室温下保存 12 个月不影响使用效果。低温条件下保存时，若溶液 P2，P3 产生沉淀，请先将溶液 P2，P3 室温（20-30°C）条件下放置一段时间，必要时可放 37°C 水浴中温浴 10 min，以溶解沉淀。

二、实验前准备

- 使用前，请把 RNaseA 全部加入到溶液 P1 中，混匀后再使用，4°C 保存。
- 使用前，请按下表准确加入 98-100% 的乙醇。

	K110-S	K110-L
漂洗液 WB	30ml	2×40ml
乙醇	120ml	2×160ml

三、操作步骤 A (离心法)

1. 取1-4 ml过夜培养的菌液，室温下 $13,000\times g$ 离心1 min收集菌体，尽量移除上清。菌液较多时，可以通过多次离心收集菌体。
2. 加入250 μl 溶液P1 (含RNaseA)，涡旋振荡使菌体沉淀彻底悬浮。
3. 加入250 μl 溶液P2，温和地上下翻转4-7次，使菌体充分裂解，室温下静置1 min，裂解时间不要超过3 min，此时菌液应变的清亮粘稠。

注意：此操作避免剧烈混匀，否则容易导致基因组DNA污染。裂解时间不宜超过3 min，以免质粒受到破坏。

如果溶液未变的清亮，则可能是由于菌体过多，裂解不彻底，应减少菌体总量，或相应增加溶液P1、P2、P3的量。

4. 加入350 μl 溶液P3，立即上下翻转7-10次，充分混匀，此时会有白色絮状沉淀出现。
5. 室温下， $\geq 13,000\times g$ 离心2 min，此时在离心管底部形成白色沉淀。
6. 小心吸取上清至套有2 ml收集管的吸附柱A1中。静置1 min。室温下， $13,000\times g$ 离心1 min，倒掉收集管中的滤液。
7. 加入500 μl 漂洗液WB(使用前请检查是否已加入乙醇)，室温下， $13,000\times g$ 离心1 min，倒掉收集管中的滤液。
再重复此步骤7一次。
8. 室温下， $13,000\times g$ 离心2 min，去除残留在吸附柱A1上的漂洗液。
注意：此步非常重要，吸附柱A1上残留的乙醇会影响后续的酶切、测序等实验。
9. 将吸附柱A1放在一个干净的1.5 ml离心管中，向硅胶膜中间滴加40-100 μl 洗脱液EB或灭菌去离子水，室温下静置1 min，然后 $13,000\times g$ 离心2 min。
注意：①洗脱液EB的洗脱体积应不少于40 μl ，体积过小会影响质粒的洗脱效率。
② 洗脱液的PH值对于洗脱效率有很大影响，建议使用洗脱液EB进行洗脱，也可用PH值在7-8之间的去离子水进行洗脱。
③ 为提高质粒的洗脱效率，可以将洗脱液EB或去离子水放在60-70°C水浴中，预热5-8min后再使用。

- 10.将质粒保存于4°C或-20°C条件下。

五、操作步骤 B (负压法)

步骤1-5同离心法。

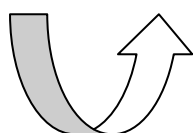
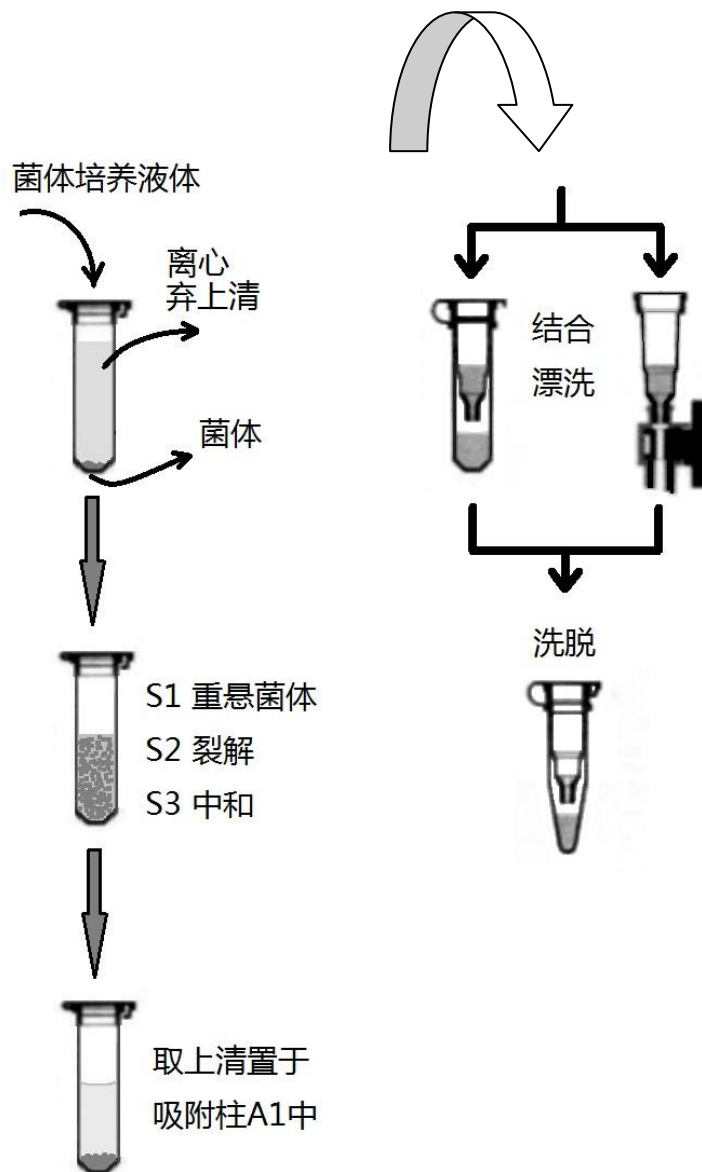
6. 将吸附柱A1连到负压装置(如真空抽滤盒)上,将第5步离心获得的上清液转移到吸附柱A1中,开启并调节负压至500-800毫米汞柱,缓慢吸走液体。

7. 加入500 μ l 漂洗液WB(使用前请检查是否已加入乙醇),室温下,开启并调节负压至500-800毫米汞柱,缓慢吸走液体。

再重复此步骤7一次。

之后步骤同离心法8-10步。

六、流程图



For research use only