



8min Hi-Yield Plasmid Mini Kit

DP102

产品概述

Product Overview

本试剂盒专用于从细菌细胞中快速提取高纯度的质粒 DNA。其采用优化的碱裂解法裂解细胞，随后通过离心吸附柱在高盐、低 pH 条件下特异性吸附溶液中的质粒 DNA，有效去除蛋白质、基因组 DNA、RNA 及其他杂质。最后利用洗脱缓冲液将纯净的质粒 DNA 从硅基质膜上洗脱下来。该提取过程无需使用酚氯仿抽提或乙醇沉淀等步骤，操作简便高效。所得质粒 DNA 可直接用于测序、PCR、酶切、连接、转化、转染常规传代细胞等多种下游生物学实验。

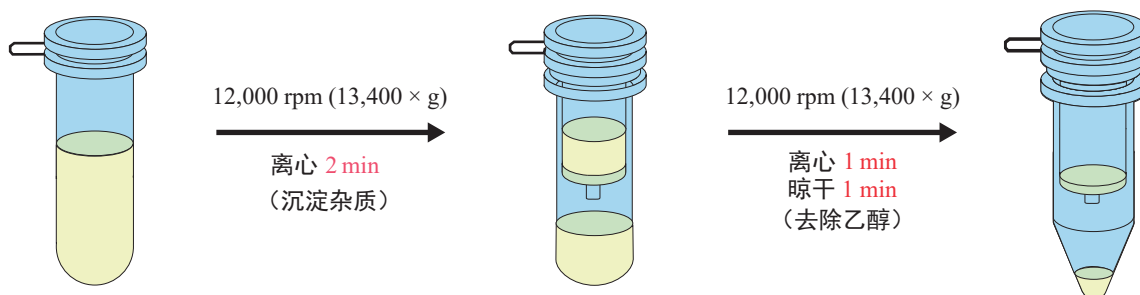
产品组成

Product Composition

组 分	DP102 100 T
RNase A	150 μ L
Buffer P1	30 mL
Buffer P2	30 mL
Buffer P3	40 mL
Buffer W1	20 mL $\times$ 2
Elution Buffer	12 mL
Spin Columns AC with Collection Tubes	100 pieces

流程概要

Process Overview

加入250 μ L Buffer P1（重悬）1 min加入250 μ L Buffer P2（裂解）30 sec加入350 μ L Buffer P3（中和）30 sec

取上清，过柱吸附结合

加入600 μ L Buffer W1（洗涤）1 min加入30 - 100 μ L Elution Buffer
或去离子水（洗脱）1 min

注意事项

Precautions

1. 首次使用前，请将 RNase A 溶液短暂离心后全部移入 Buffer P1 中，混合均匀并做好标记，于 4°C 保存；
2. 首次使用前，请按 Buffer W1 瓶身标签指示加入指定量的无水乙醇，混合均匀并做好标记，于室温保存；
3. 使用前请检查 Buffer P2 和 Buffer P3 是否澄清，若出现浑浊，可置于 37°C 水浴中加热 10 min，待恢复澄清后使用；
4. 操作时请避免直接接触 Buffer P2、Buffer P3 及 Buffer W1，建议佩戴手套，使用后请立即盖紧瓶盖。
5. 所有离心步骤均在室温下进行，建议使用常规台式离心机，转速为 12,000 rpm（约 13,400×g）；
6. 质粒提取的得率与质量受宿主菌种类、质粒拷贝数及质粒稳定性等因素影响。

操作流程

Operation Process

1. 取 1 - 5 mL 过夜培养 (12 - 16 h) 的菌液，加入离心管中(自备)，12,000 rpm (~13,400 × g) 离心 1 min。尽量吸除上清。
2. 向留有菌体沉淀的离心管中加入 250 μL Buffer P1 (请先检查 Buffer P1 是否已经加入 RNase A)，用移液器或涡旋彻底振荡混匀。
注：重悬后应确保悬液中看不到细菌团块。若有未彻底混匀的菌块，会降低裂解效率，影响质粒提取量和纯度。
3. 向步骤 2 溶液中加入 250 μL Buffer P2，温和的上下颠倒混匀 8 - 10 次，使菌体充分裂解。
注：轻柔颠倒混匀，剧烈震荡会引起基因组 DNA 断裂，导致小片段基因组 DNA 污染提取的质粒。此时溶液应变得粘稠而透亮，若溶液未变清亮，说明裂解不彻底，应适当减少菌量。所用时间不要超过 5 min，以免破坏质粒。
4. 向步骤 3 溶液中加入 350 μL Buffer P3，立即温和地上下颠倒 8 - 10 次让溶液彻底混匀。此时应出现白色絮状物。12,000 rpm (13,400 × g) 离心 2 min。
注：Buffer P3 加入后应立即颠倒混匀，防止产生局部沉淀影响中和效果。若上清中离心后还有微小白色沉淀，可再次离心后取上清。
5. 将 Spin Columns AC 吸附柱置于 Collection Tube 收集管中。将步骤 4 上清用移液器转移至吸附柱中，注意不要吸到沉淀，12,000 rpm (13,400 × g) 离心 30 - 60 sec。倒掉收集管中的废液，把吸附柱放回收集管中。
6. 加入 600 μL Buffer W1 (请检查是否已用无水乙醇稀释) 至吸附柱中，室温静置 30 sec。12,000 rpm (13,400 × g) 离心 30 - 60 sec。弃废液，将吸附柱放回收集管中。
7. 重复步骤 6。
8. 12,000 rpm (13,400 × g) 离心 1 min 干燥吸附柱，目的是将吸附柱中残留的漂洗液彻底去除。
9. 把吸附柱置于一个新的灭菌的 1.5 mL 离心管中，开盖晾干 1 min。加入 30 - 100 μL Elution Buffer 至吸附柱的膜中央，12,000 rpm (13,400 × g) 离心 1 min 洗脱质粒 DNA。
注：洗脱体积不应少于 30 μL，低于 30 μL 会导致洗脱效率下降。若需要获得最高产量，将 Elution Buffer 预热至 55°C 提高洗脱效率。若后续做测序需使用 ddH₂O 洗脱，请确保 ddH₂O 的 pH 在 7.0 - 8.5 范围内，pH 低于 7.0 会降低洗脱效率。
10. 弃去吸附柱，DNA 产物保存于 -20°C，以防止 DNA 降解。

保存条件

Storage conditions and shelf life

RNase A，-30 ~ -15°C 保存，干冰运输；其他组分 15 ~ 25°C 保存，室温运输；加入 RNase A 的 Buffer P1 置于 2 ~ 8°C 保存。保质期限：24个月。