

产品组分

组分名称	组分编号	规格-1	规格-2
		50 RXN	200 RXN
RNase A	RM30533	30 μ L	120 μ L
溶液 A (Buffer A)	RM30596	28 mL	115 mL
溶液 S1 (Buffer S1)	RM30534	15 mL	60 mL
溶液 S2 (Buffer S2)	RM30535	15 mL	60 mL
溶液 S3 (Buffer S3)	RM30536	21 mL	85 mL
漂洗液 W1 (Buffer W1)	RM30537	28 mL	115 mL
漂洗液 W2 (Buffer W2) *	RM30538	24 mL	2 $\times$ 54 mL
洗脱液 EB (Buffer EB)	RM30539	5 mL	20 mL
吸附柱 SC1 (Spin Column 1)	RM30540	50 pk	4 $\times$ 50 pk
2 mL 离心管 (2 mL Centrifuge Tubes)	RM30541	50 pk	4 $\times$ 50 pk
1.5 mL 离心管 (1.5 mL Centrifuge Tubes)	RM30542	50 pk	4 $\times$ 50 pk

*50 RXN Buffer W2 使用前加入 56 mL 无水乙醇; 200 RXN Buffer W2 使用前每瓶各加入 126 mL 无水乙醇。

产品说明

本试剂盒采用改进的 SDS-碱裂解法去裂解细胞, 柱内硅基质膜在高盐、低 pH 值状态下选择性地结合溶液中的质粒 DNA, 再通过漂洗液将杂质和其他细菌成分去除, 最后低盐、高 pH 值的洗脱液将纯净质粒 DNA 从硅基质膜上洗脱。本试剂盒适合于从 1-4 mL 细菌培养物中提取多至 20 μ g 高纯的质粒 DNA, 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。

保存条件

1. 本试剂盒在室温储存不影响使用效果。
2. RNase A 室温可储存 6 个月, 长期储存于 -20°C。

注意事项

1. Buffer S2、Buffer S3 和 Buffer W1 含刺激性化合物, 操作时要戴乳胶手套和眼镜, 避免沾染皮肤、眼睛和衣服, 谨防吸入口鼻。若沾染皮肤、眼睛时, 要立即用大量清水或生理盐水冲洗, 必要时寻求医疗咨询。
2. 每次使用后应及时盖紧试剂瓶, 以避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化。
3. 在 2-8°C 保存条件下, 若溶液产生沉淀, 使用前应先将试剂盒内的溶液在室温中放置一段时间, 必要时可在 37°C 水浴中预热 10 min 以溶解沉淀。

操作说明

实验前准备

1. 首次使用时请按说明向 Buffer W2 中加入规定量的无水乙醇 (用户自备), 充分混匀。加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇, 以免多次加入。
2. 首次使用时, 将试剂盒所带的全部 RNase A (50 mg/mL) 加入 Buffer S1 后 (终浓度 100 μ g/mL) 置于 2-8°C 保存。如果 Buffer S1 中 RNase A 失活, 提取的质粒可能会有微量 RNA 残留, 在 Buffer S1 中补加 RNase A 即可 (ABclonal, RM29870)。

实验步骤

1. 取 1-4 mL 在 LB 培养基中培养过夜的菌液 (若使用丰富培养基, 菌液体积应减半或更少), 12,000 $\times$ g 离心 1 min, 尽可能的弃尽上清, 收集菌体。
2. 加 250 μ L **Buffer S1** (请先检查是否已加入 **RNase A**!) 重悬菌体沉淀, 涡旋振荡至彻底悬浮。
*未彻底混匀的菌块, 会影响裂解, 导致提取量和纯度偏低。如果没有涡旋器, 可以用手指轻弹管底, 把沉淀弹开。
3. 加 250 μ L **Buffer S2**, 温和并充分地上下翻转 4~6 次混合均匀使菌体充分裂解, 直至形成透亮的溶液。此步骤不宜超过 5 min。

*Buffer S2 使用后立即盖紧瓶盖，以免空气中的 CO₂中和 Buffer S2 中的 NaOH，降低溶菌效率。

*避免剧烈摇晃，否则将导致基因组 DNA 的污染。

4. 加 350 μL **Buffer S3**，立即温和并充分地上下翻转混合 6~8 次，12,000 × g 离心 10 min。

*避免剧烈摇晃，否则将导致基因组 DNA 的污染。

5. 柱平衡液预处理吸附柱 SC1：取一个新的吸附柱 SC1 置于收集管中，吸取 500 μL 的柱平衡液 **Buffer A** 至柱子中。12,000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中废液，将吸附柱子重新放回收集管。此时平衡液预处理柱子完毕，接后续的操作步骤。（请使用当天处理过的吸附柱。）

步骤 6~9 可以选择负压法或离心法纯化质粒 DNA

A. 负压法

- 6A. 将吸附柱 SC1 插到负压装置的接口上。吸取步骤 4 中的离心上清并转移到吸附柱 SC1 中，开启并调节负压至 -25-30 英寸汞柱，缓慢吸走管中溶液。
- 7A. 加 500 μL **Buffer W1**，吸尽管中溶液。
- 8A. 加 700 μL **Buffer W2**（请先检查是否已加入无水乙醇！），吸尽管中溶液；以同样的方法使用 700 μL **Buffer W2** 再洗涤一次。
- 9A. 将吸附柱 SC1 置于 2 mL 离心管中，12,000 × g 离心 1 min。

B. 离心法

- 6B. 吸取步骤 4 中的离心上清并转移到吸附柱 SC1（置于 2 mL 离心管中），12,000 × g 离心 1 min，弃滤液。
- 7B. 将吸附柱 SC1 置回离心管，加 500 μL **Buffer W1**，12,000 × g 离心 1 min，弃滤液。
- 8B. 将吸附柱 SC1 置回离心管，加 700 μL **Buffer W2**（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 × g 离心 1 min，弃滤液；以同样的方法使用 700 μL **Buffer W2** 再洗涤一次。弃滤液。
- 9B. 将吸附柱 SC1 置回 2 mL 离心管中，12,000 × g 离心 1 min。
10. 取出吸附柱 SC1，放入新的 1.5 mL 离心管中，在吸附柱膜中央加 60-80 μL **Buffer EB**，室温静置 2 min，12,000 × g 离心 2 min。
- *为提高洗脱效率，洗脱液可预先在 65-70°C 水浴中加热。
11. 将所得 DNA 洗脱液置于 -20°C 保存或直接用于后续实验。