

一步法质粒 DNA 小量试剂盒说明书

产品组成

一步法质粒 DNA 小量试剂盒 Cat.No.	50 次制备 1002050	250 次制备 1002250
核酸纯化柱	50 个	250 个
2 ml 离心管	50 个	250 个
裂解酶	180 mg	300 mg×3
裂解酶溶解液	900 µl	1.5 ml×3
Buffer FL	36 ml	60 ml×3
Buffer FW2	36 ml	180 ml
Buffer E	6 ml	30 ml
说明书	1 份	1 份

产品储存

1. 裂解酶及裂解酶溶解液可室温运输，收到产品后请置于 2-8℃ 贮存。其他试剂与物品如果储存于常温（0~30℃），可在两年内保持使用性能无明显变化。
2. 裂解酶溶解后，无论是否加入 Buffer FL 中都需置于 2~8℃ 保存，可稳定保存 4 个月。加入裂解酶后的 Buffer FL 也请置于 2~8℃ 保存，在 4 个月内使用不影响裂解效果。

技术支持

杭州新景生物试剂开发有限公司研发部：e-mail: technical@simgen.cn，电话：400-0099-857。

产品介绍

本试剂盒采用新型的一步法酶裂解技术，仅需 6 分钟即可从 1-5 ml 过夜培养菌液中快速纯化出高质量的质粒 DNA。独特的缓冲液配方将 SDS 碱裂解法中的菌体重悬、裂解及中和三个步骤合并为一步，搭配先进的硅胶膜吸附技术，能高效特异地结合质粒 DNA，并有效去除蛋白质、基因组 DNA 等杂质。洗脱获得的高质量质粒 DNA，可直接用于酶切、PCR、测序、转化等分子生物学实验。

用户需自备的试剂与物品

1. 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管
2. 移液器及吸头
3. 一次性手套及防护用品和纸巾
4. 台式小量离心机（可配离心 1.5 ml 离心管和 2 ml 离心管的转子）
5. 旋涡振荡器
6. 可能需要水浴锅

使用前准备

使用前将裂解酶溶解液加入裂解酶中，上下颠倒溶解，然后全部转移到 Buffer FL 中，并在标签的方框中打勾做好“裂解酶已加”的标记，混匀后将溶液置于 2~8℃ 保存。加入裂解酶后的 Buffer FL 在 2~8℃ 储存 4 个月后其裂解菌体的性能可能会降低，需要重新补加裂解酶后才能正常使用。

注意事项

1. 本试剂盒适用于 end A-宿主菌，end A+宿主菌因存在内源核酸酶，酶切时会导致纯化的质粒降解，推荐使用质粒 DNA 小量试剂盒（Simgen Cat. No. 1001050）提取质粒。
2. 若所提取的质粒为低拷贝质粒或大于 15 kb 的质粒，推荐使用快速质粒 DNA 小量试剂盒（Simgen Cat. No. 1005050），以获得更好提取效果。

操作步骤

1. 实验操作前请将 Buffer FL（请先检查是否已加入裂解酶）置于冰上，预冷至 0~4℃后使用。

* 注意：确保Buffer FL低温使用，否则会影响后续裂解效果，导致产量和纯度偏低。

2. 取 1-5 ml 过夜培养的菌液，加入 2 ml 离心管（自备）中，12000 rpm 离心 1 分钟，弃尽培养基（菌液较多时可通过多次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中）。

* 不要使用 1.5 ml 离心管收集菌体，沉积在 1.5 ml 离心管底部的菌体在后续加入 Buffer FL 旋涡振荡的过程中会难以悬浮，导致产生大量难以分散的小菌块。

3. 加入 600 μ l 已预冷的 Buffer FL，**立即旋涡振荡 30 秒**，彻底重悬菌体沉淀，**室温（15~25℃）** 孵育 3 分钟。Buffer FL 使用完后请及时置回 2~8℃保存。

* 加入 Buffer FL 后，应立即旋涡振荡重悬菌体沉淀直至看不到细菌团块，从而提高产量并避免基因组 DNA 污染。若不立即悬浮菌体（其效果等同于加入未预冷的 Buffer FL），会导致菌体沉淀块表面先被溶解，进而影响菌体沉淀的充分悬浮，产生大量难以分散的小菌块。

* 如果环境温度低于 15℃，应将孵育条件改为在 37℃水浴锅中孵育 3 分钟，否则可能会由于低温导致酶活力降低的原因，使最终质粒 DNA 的回收量降低并残留有 RNA。

* 孵育后菌体悬液应呈半透明状，若溶液呈略微浑浊且不粘稠状态属正常现象，不影响后续实验。

4. 将步骤 3 的溶液全部转移至核酸纯化柱（核酸纯化柱置于 2 ml 离心管中）中，12000 rpm 离心 30 秒，弃滤液。

5. 将核酸纯化柱置回 2 ml 离心管中，沿核酸纯化柱管壁四周加入 600 μ l Buffer FW2，12000 rpm 离心 30 秒，弃滤液。

6. 将核酸纯化柱置回 2 ml 离心管中，最高速（ ≥ 12000 rpm）离心 1 分钟。

* 此步骤高速空离是为了去尽残留的液体，请勿省略，否则可能因所纯化的质粒中残留有抑制物而影响后续的实验效果。

7. 弃 2 ml 离心管，将核酸纯化柱置于洁净的 1.5 ml 离心管（自备）中，向核酸纯化柱膜中央加入 50~100 μ l Buffer E，12000 rpm 离心 30 秒。

8. 弃纯化柱，洗脱的质粒 DNA 可立即用于各种分子生物学实验；或者将质粒 DNA 储存于 -20℃备用。