



质粒小提试剂盒 使用说明书

产品编号：**PE035**

储存条件：试剂盒室温条件下，有效期 18 个月。RNase A 加入溶液 S1 后，2-8℃ 保存，有效期 6 个月。

产品内容：

产品组成	PE035-100T	保存条件
溶液 S1 (Buffer S1)	30 mL	室温
溶液 S2 (Buffer S2)	30 mL	室温
溶液 S3 (Buffer S3)	40 mL	室温
漂洗液 PW	2 × 80 mL	室温
RNase A 溶液	300 μL	2-8℃
洗脱缓冲液 TE	10 mL	室温
收集管(2 ml)	100 个	室温
吸附柱	100 个	室温
说明书	1 份	

产品说明：

本试剂盒采用碱裂解法提取质粒，适用于提取 1-5 mL 过夜培养的大肠杆菌。此产品拥有独特的缓冲系统，附带硅胶吸附柱，高效吸附 DNA。使用本试剂盒提取的质粒可适用于各种常规操作，包括酶切、连接、PCR、测序、文库筛选、转染一些常规的传代细胞等分子生物学实验。



操作步骤:

1. 取 1-5 mL 过夜培养的菌液，加入离心管中，12000 rpm 室温离心 1 min，弃去上清。
2. 向菌体沉淀中加入 250 μ L Buffer S1（使用前请确认已加入 RNase A），通过移液器或旋涡振荡仪震荡重悬菌体，直至无菌块沉淀。

注意：若菌块未彻底混匀，将影响菌体裂解及后续质粒提取效率。

3. 向离心管中加 250 μ L Buffer S2，温和地上下翻转 6-8 次，使菌体充分裂解。

注意：混匀时要温和，不能剧烈震荡，避免打断大肠杆菌基因组 DNA，造成污染。此外裂解时间不宜超过 5 min，以免质粒受到破坏。

4. 向离心管中加入 350 μ L Buffer S3，立即温和地上下翻转 6-8 次，充分混匀。此时会出现白色絮状沉淀。

注意：Buffer S3 加入后应立即混匀，避免产生局部沉淀。

5. 12000 rpm 离心 10 min，将上清转移至吸附柱中。
6. 12000 rpm 离心 1 min，弃滤液。
7. 向吸附柱中加入 700 μ L 漂洗液 PW（使用前检查是否加入无水乙醇），12000 rpm 离心 1 min；弃液。
8. 重复步骤 7。
9. 12000 rpm 离心 2 min，彻底去除残留液体。
10. 将吸附柱转移至新的 1.5 mL 离心管中，室温下静置 2 min，彻底挥发酒精残留。



11. 向吸附膜的中央滴加入 40-60 μL 洗脱缓冲液 TE 或灭菌的去离子水，室温下放置 2 min，12000 rpm 离心 1 min，质粒溶液收集到离心管中。

注意：提前将洗脱液或去离子水于 65°C 预热，可提高质粒回收效率。洗脱体积不宜过小，否则会影响回收效率。为增加质粒回收效率，可将洗脱下来的液体重新加入吸附柱中，再次洗脱。

注意事项：

1. 首次使用前，将 RNase A 溶液全部加入到 Buffer S1 中，置于 4°C 保存。
1. Buffer S2、Buffer S3 含刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套和口罩，避免沾染皮肤，谨防吸入口鼻。
2. 细菌的培养时间不要超过 16 h，最好控制在 12-14 h。如果培养时间过长，大量细菌死亡并产生大量菌体碎片，影响质粒提取效率。
3. 如果提取的质粒大于 10 kb，应该加大菌体使用量，同时按比例增加 Buffer S1、Buffer S2、Buffer S3，吸附和洗脱时间可适当延长，以增加提取质粒浓度。
4. 实际质粒的得率与宿主菌种类、质粒拷贝数、菌浓度等有关。

20230921 版