



版本号: 2310

GenePrep Mini Plasmid kit

质粒 DNA 小提试剂盒

(离心柱型)

目录号: GNP-01-50

产品内容

组分	GNP-01-50	备注
制备次数	50 次	/
吸附柱CP1	50	吸附柱
2 ml 离心管	50	处理管
1.5 ml 离心管	50	收集管
RNase A	30 μ l	50 mg/ml
Buffer P1	15 ml	悬浮液
Buffer P2	15 ml	裂解液
Buffer P3	21 ml	中和液
Buffer W1	28 ml	去蛋白洗涤液
Buffer W2	24 ml	漂洗液, 需加入适量乙醇
Buffer Eluent	5 ml	洗脱液
说明书	1	/

储存条件

该试剂盒置于室温（15-30°C）干燥条件下，可保存18个月。若溶液产生沉淀，可在37°C温浴加热至沉淀完全溶解，不影响效果。第一次使用前将RNase A全部加入Buffer P1中，混匀后于2~8°C贮存。

产品简介

本试剂盒采用改进的 SDS 碱裂解法，结合 DNA 吸附柱选择性地吸附 DNA 的方法达到快速纯化质粒DNA 的目的。适合于从 1-4 ml 细菌培养物中提取多至 20 µg 高纯的质粒 DNA，用于测序、体外转录与翻译、限制性内切酶消化、细菌转化等分子生物学实验。

注意事项 请在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

1. 使用前将试剂盒中的RNase A全部加入到悬浮液Buffer P1中，混匀，置于2~8℃储存。
2. 使用前请先在漂洗液Buffer W2中加入无水乙醇，加入体积请参照试剂瓶上的标识。
3. 使用前，检查Buffer P2是否出现沉淀，应于37℃水浴中加热溶解后再使用。

操作步骤

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×g离心 1 min，弃尽上清。
2. 加 250 µl Buffer P1（**请先检查是否已加入RNase A**）悬浮细菌沉淀，悬浮需均匀，不应留有小的菌块。
3. 加 250 µl Buffer P2，温和并充分地上下翻转 6-8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。

注意：避免剧烈摇晃，否则将导致基因组 DNA 的污染。此步骤不宜超过 5 min，以免质粒受到破坏。Buffer P2 使用后立即盖紧瓶盖，以免空气中CO₂中和 Buffer P2 中的 NaOH，降低溶菌效率。

4. 加350 µl Buffer P3，温和并充分地上下翻转混合 6-8 次，12,000×g 离心 10 min。

注意：*避免剧烈摇晃，否则将导致基因组 DNA 的污染。

5. 吸取步骤 4 中的离心上清并转移到吸附柱（置于 2 ml 离心管）中，12,000×g离心 1 min，弃滤液。

6. 将吸附柱置回2 ml 离心管，加 500 μ l 蛋白洗涤液Buffer W1，12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃滤液。
7. 将吸附柱置回2 ml离心管，加 700 μ l 漂洗液Buffer W2（请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 $\times$ g 离心 1 min，弃滤液。
8. 重复操作步骤7。

注意：两次使用Buffer W2 冲洗能确保盐份被完全清除，消除对酶切反应的影响。

9. 将吸附柱置回 2 ml 离心管中，12,000 $\times$ g 离心 1 min。
10. 将吸附柱移入新的 1.5 ml 离心管中，在制备管膜中央加 60-80 μ l Buffer Eluent 或去离子水，室温静置 1 min。12,000 $\times$ g 离心 1 min。

注意：将洗脱液 Buffer Eluent 或去离子水加热至 65 $^{\circ}$ C将提高洗脱效率。