



Toll-free:400-611-2007

Order:010-62617225 62979301

Email:zomanbio@126.com

Http://www.zomanbio.com



版本号:2018-08-31

# 快速质粒DNA小量提取试剂盒

## Fast Plasmid Miniprep Kit

目录号: ZPK101

试剂盒组成	ZPK101-1 50次	ZPK101-2 100次	ZPK101-3 200次
RNaseA (10 mg/ml)	150 $\mu$ l	300 $\mu$ l	600 $\mu$ l
溶液K1	15 ml	30 ml	60 ml
溶液K2	15 ml	30 ml	60 ml
溶液K3	20 ml	40 ml	80 ml
去蛋白液W1	30 ml	60 ml	120 ml
漂洗液W2	15 ml	2X15 ml	2X30 ml
洗脱缓冲液TE	15 ml	15 ml	30 ml
吸附柱	50个	100个	200个
收集管(2 ml)	50个	100个	200个
说明书	1份	1份	1份

### ■ 储存条件

本试剂盒在室温(15-25°C)干燥条件下,可保存1年;更长时间的保存可置于2-8°C。若溶液产生沉淀,应在使用前置于37°C下溶解沉淀。单独包装的RNase A 在-20°C可稳定保存1年以上。加入RNase A后的溶液K1应置于2-8°C保存,可稳定保存半年。

实验室使用,仅用于科研

北京庄盟国际生物基因科技有限公司  
Beijing Zoman Biotechnology Co.,Ltd.



## ■ 产品简介

本试剂盒采用碱裂解法裂解抽提细菌质粒。优化后的质粒抽提溶液系统，较传统的质粒提取更快速，更顺畅。离心吸附柱中采用的硅基材料为本公司特有新型材料，高效、专一吸附DNA。本试剂盒适用于从1-5 ml过夜培养的大肠杆菌LB (Luria-Bertani) 培养液中，快速提取多至40  $\mu\text{g}$ 纯净的高拷贝质粒DNA。

使用本试剂盒提取的质粒DNA适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、转化、文库筛选、体外翻译等。

## ■ 注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 按1: 100的比例向溶液K1中加入RNaseA，混匀，置于2 - 8°C保存。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在漂洗液W2中加入无水乙醇。
3. 使用前请先检查溶液K2和溶液K3是否出现浑浊，如有混浊现象，可在37°C水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
4. 注意不要直接接触溶液K2和溶液K3，使用后应立即盖紧盖子。
5. 所有离心步骤均为使用常规台式离心机室温下进行离心，速度为12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)，低温离心机请将温度调节至25°C。
6. 去蛋白液W1可以有效去除残留的蛋白污染，当宿主菌为endA+ (TG1、BL21、HB101、ET12567、JM系列) 等核酸酶含量较高的菌株时，强烈推荐使用去蛋白液W1。
7. 去蛋白液W1可能会影响实验得率，因此如果宿主菌非上述提及的名称，可省略此步骤。

## ■ 操作步骤

- 1. 收集菌体:** 取菌液1-5 ml, 加入离心管中, 12,000 rpm (~13,400×g) 离心1分钟, 收集沉淀。(菌液体积大于离心管, 可以多次离心将菌体收集到一个离心管中)。
- 2. 重悬菌体:** 向留有菌体沉淀的离心管中加入250 μl溶液K1 (请先检查是否已加入RNaseA), 使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀。  
**注意:** 如果有未彻底混匀的菌块, 会影响裂解, 导致提取量和纯度偏低
- 3. 裂解菌体:** 向离心管中加入250 μl溶液K2, 温和地上下翻转3-5次使菌体充分裂解。  
**注意:** 温和地混合, 不要剧烈震荡, 以免造成所得产物有基因组DNA污染。菌液应变得清亮粘稠表明已充分裂解, 所用时间不应超过5分钟。如果未变得清亮, 可能由于菌体过多, 裂解不彻底, 应当减少菌体量。
- 4. 沉淀除杂:** 向离心管中加入350 μl溶液K3, 立即温和地上下翻转3-5次, 充分混匀, 即出现白色絮状沉淀,且沉淀颗粒不大于5mm。12,000 rpm (~13,400×g)室温离心1分钟(离心机温度可调节在20°C以上, 不可以低温), 此时在离心管底部形成沉淀。  
**注意:** a、溶液K3加入后应立即混合, 避免产生局部沉淀。如果上清中还有微小白色沉淀, 可再次离心后取上清。  
b、低温离心时, 可能会出现白色络合物, 可37°C温浴2-3min后重新常温离心沉淀。  
c、若1min离心沉淀不紧密, 为菌液过多, 请加长离心1-2min。
- 5. 吸附纯化:** 将上一步收集的上清液用移液器转移到吸附柱中(吸附柱放入收集管中), 注意尽量不要吸出沉淀。12,000 rpm (~13,400×g)离心30-60秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱放入收集管中。  
**注意:** 静置2min可提高5%-10%提取量。
- 6. 可选步骤:** 向吸附柱中加入500 μl去蛋白液W1, 12,000 rpm (~13,400×g)离心30-60秒, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。  
如果宿主菌是end A+宿主菌(TG1, BL21, HB101, JM系列, ET12567等), 这些宿主菌含有大量的核酸酶, 易降解质粒DNA, 推荐采用此步。  
此步骤可能会影响质粒的得率, 如果宿主菌是endA-宿主菌(DH5α, TOP10等), 这步可省略。



7. **漂洗**：向吸附柱中加入500-600  $\mu\text{l}$ 漂洗液W2（**请检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ )离心20秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。
8. **（可选）重复步骤7一次**
9. **空离**：将吸附柱放入收集管中，12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ )离心1分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除。
10. **洗脱**：将吸附柱置于一个干净的离心管中，**向吸附膜的中间部位滴加**80-150  $\mu\text{l}$ 洗脱缓冲液TE，室温放置1分钟，12,000 rpm ( $\sim 13,400\times g$ )离心1分钟将质粒溶液收集到离心管中。

**注意**：为了增加质粒的回收效率，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，重复步骤10。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用水做洗脱液，应保证其pH值在7.5-8.5范围内(可以用NaOH将水的pH值调到此范围)，pH值低于7.0会降低洗脱效率。

洗脱缓冲液体积不应少于60  $\mu\text{l}$ ，体积过小影响回收效率。且DNA产物应保存在 $-20^{\circ}\text{C}$ ，以防DNA降解。

## ■ 传统与快速质粒提取对比图

步骤	传统 (ZP101)	推荐 (ZPK101)	快速 (ZPK101)
收集菌液	1min	1min	1min
悬浮裂解中和	2min	2min	2min
离心沉淀	10min	1min	1min
吸附	静置2min	静置2min	无需静置
漂洗	2次 (1min)	2次 (1min)	1次 (30s)
空离	1min	1min	1min
晾干	3-5min	3min	无需晾干
洗脱静置	1min	1min	1min
离心收集	1min	1min	1min
总用时	22-24min	13min	8min

**备注**：快速操作对于酶切、转化等实验无影响；可根据菌液、质粒大小和下游实验选择推荐或快速操作。