

漂洗液去除。

*Buffer W中乙醇的残留可能会影响后续酶切、PCR等实验。建议将吸附柱开盖室温放置几分钟，彻底晾干吸附柱中残余的漂洗液。

11.将吸附柱移入新的1.5ml离心管中，在吸附柱膜中央加50-100 μl Buffer E或去离子水，室温静置2min。12,000rpm（~13,400×g）离心2min将质粒溶液收集到离心管中。

*加入Buffer E的体积不应少于50ul，体积过小影响回收效率。

*若后续做测序，需用去离子水做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低回收效率

*将 Buffer E或去离子水加热至65℃可提高回收效率。

*可将得到的溶液重新加入吸附柱中，室温放置2min，12,000rpm（~13,400 ×g）离心2min将质粒溶液收集到离心管中。

Beijing Labgic Technology Co., Ltd.
Add.No.9 Yumin Street, Area B of the Airport Industrial
Zone, Shunyi District, Beijing 101318 China
Toll Free:400-600-4213

质粒小提试剂盒

Plasmid Mini Kit

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞，再通过离心吸附柱在高盐状态下选择性地吸附DNA的方法达到快速纯化质粒DNA的目的。适用于提取1-5ml过夜培养的大肠杆菌，质粒提取得率和质量与宿主菌的种类和培养条件，细胞的裂解，质粒拷贝数，质粒的稳定性，抗生素等因素有关。高拷贝质粒最多可提取30ug质粒DNA，低拷贝质粒最多可提取12ug质粒DNA。

使用本试剂盒提取的质粒DNA可用于PCR、测序、酶切、连接、转化、文库筛选、体外翻译、转染一些常规的传代细胞等实验操作。

● 试剂盒组成

Cat.No.	KIT-PMN-50	KIT-PMN-250
Buffer B	30ml	125ml
Buffer S1	15ml	75ml
Buffer S2	15ml	75ml
Buffer S3	20ml	100ml
Buffer P	30ml	125ml
Buffer W	15ml	35mlX2
Buffer E	15ml	60ml
RNaseA	150ul	750ul
吸附柱	50个	250个
2ml回收管	50个	250个
说明书	1	1

● 储存条件

试剂盒于常温运输，未开启的试剂盒可以于室温(15-25℃)干燥条件下保存12个月。如需更长的保存时间，可将试剂盒置于2-8℃。

第一次使用前将RNase A加入Buffer S1中，混匀后置于2-8℃保存，可稳定保存12个月以上。

2-8℃保存条件下，溶液可能产生沉淀，需在使用前将试剂盒内的溶液在室温静置一段时间，或在37℃水浴中预热10 min，即可溶解沉淀。

● 注意事项 请务必在使用前仔细阅读此注意事项。

1. Buffer S1在使用前先加入RNase A（将试剂盒中提供的RNase A全部加入），混匀，置于2-8℃保存。

2. 使用前请先检查Buffer B、Buffer S2和S3是否出现浑浊，如有混浊现象，可在37℃水浴中预热10 min，即可恢复澄清。

3. 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12,000rpm (~13,400×g)。

4. 实验前使用Buffer B处理吸附柱，可以最大限度激活硅基质膜，提高得率。用Buffer B处理过的柱子最好当天使用，放置时间过长会影响效果。

5. Buffer P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，强烈推荐使用时Buffer P。

6.如果所提质粒为低拷贝质粒或大于10kb的大质粒，建议使用5-10ml过夜培养的菌液，同时按照比例增加S1、S2、S3的用量，Buffer E应在65-70℃水浴预热，在吸附和洗脱时适当延长时，以增加提取效率。其他步骤相同。

● 操作步骤

第一次使用时，将试剂盒内的RNase A全部加入到Buffer S1中，混合均匀，4℃贮存。

1.柱平衡步骤：向吸附柱中（吸附柱放入收集管中）加入500μl的Buffer B，12,000

rpm(~13,400×g)离心1min，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）。

2.取1-5ml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），12,000rpm (~13,400×g) 离心1min，弃尽上清（菌液较多时可以通过多次离心将菌体收集到一个离心管中）。

3.加250μl Buffer S1悬浮细菌沉淀，可使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀，悬浮需均匀，不应留有小的菌块。

*确认Buffer S1中已加入RNase A。

*如果有未彻底混匀的菌块，会影响裂解效果，导致得率和纯度偏低。

4.加250μl Buffer S2，温和并充分地上下翻转6-8次使菌体充分裂解，直至形成清亮粘稠的溶液。

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

*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5min，以免质粒受到破坏。

*如果未变得清亮，可能由于菌体过多造成裂解不彻底，应减少菌体量。

5.加350μl Buffer S3，温和并充分地上下翻转混合6-8次，充分混匀，此时将出现白色絮状沉淀。12,000rpm (~13,400 ×g) 离心10min。

*P3加入后应立即混合，避免产生局部沉淀。

*避免剧烈摇晃，否则将导致基因组DNA的污染。

*上清中如果还有微小白色沉淀，可再次离心后取上清。

6.吸取步骤5中的离心上清并转移到吸附柱（置于2ml离心管中），注意尽量不要吸出沉淀。12,000rpm (~13,400×g) 离心30 sec-1 min，弃滤液。

7.可选步骤：吸附柱放回离心管，向吸附柱中加入500μl Buffer P，12,000rpm (~13,400×g)离心30sec-60min，弃滤液。

* 如果宿主菌是endA-宿主菌（DH5α，TOP10等），这步可省略。

* 如果宿主菌是end A+宿主菌（TG1，BL21，HB101，JM系列，ET12567等），由于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。

8.将吸附柱放回离心管，加600μl Buffer W，12,000rpm (~13,400 ×g) 离心30 sec-1min，弃滤液。

* 确认在Buffer W中已按试剂瓶上的指定体积加入无水乙醇。

9.重复操作步骤8

10.将吸附柱放回离心管中，12,000rpm (~13,400×g) 离心2min，将吸附柱中残余的