

版本号: FDH2229

## FineQuick Plasmid Mini Kit

### FineQuick 快速小量质粒柱式提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: FD905

**产品内容:**

产品组成	FD905-1 (50 preps)	FD905-2 (100 preps)
RNase A(10 mg/ml)	150 $\mu$ l	300 $\mu$ l
Buffer BL	30 ml	60 ml
Buffer P1	15 ml	30 ml
Buffer P2	15 ml	30 ml
Buffer P5	20 ml	40 ml
Buffer DWQ	10 ml	20 ml
Buffer TB	15 ml	15 ml
DNAPure Mini Spin Columns	50 个	100 个
2 ml Collection Tubes	50 个	100 个

**储存条件:**

本试剂盒所有组分可置于室温 (15- 25°C) 干燥条件下保存 12 个月。

## 产品简介：

本试剂盒对常规质粒提取步骤，Buffer P5和Buffer DWQ进行了优化，结合玻璃纤维素膜特异性吸附溶液中DNA的方法，可在8 min内获得高质量质粒DNA。该方法适合从1-4 ml细菌培养物中提取多至35 µg质粒DNA。纯化的质粒DNA可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、连接、转化、文库筛选、体外翻译、转染一些常规的传代细胞等。

## 提取得率：

质粒类型	菌液量	得率	质粒
低拷贝	1-4 ml	3-10 µg	pBR322,pET 系列,pACYC,PSC101 等
高拷贝	1-4 ml	6-24 µg	pTZ, pUC, pBS, pGM-T 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. 在使用前将全部 RNase A 加入 Buffer P1，混匀，置于 2-8°C 保存。
2. 使用前请检查 Buffer P2 和 P5 是否出现浑浊，如有浑浊现象，可在 37°C 孵育几分钟，即可恢复澄清。注意不要直接接触 Buffer P2 和 P5，使用后应立即盖紧盖子。
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 12,000 rpm。
4. 提取的质粒量与细菌培养浓度、质粒拷贝数等因数有关。

## 操作步骤：

使用前请先在 Buffer DWQ 中加入无水乙醇，加入体积参照瓶上的标签。

1. 柱平衡步骤：向吸附柱 DNAPure Mini Spin Column 中（吸附柱放入收集管中）加入 500 µl 的 Buffer BL，12,000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，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 1-4 ml 过夜培养的菌液，加入离心管中，12,000 rpm 离心 1 min，尽量吸除上清（菌液较多时可以通过多次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中）。

- 
3. 向留有菌体沉淀的离心管中加入 150  $\mu$ l Buffer P1/RNase A, 使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀。

**注意：彻底重悬细菌对产量很关键，重悬后应看不到细菌团块。**

4. 向离心管中加入 150  $\mu$ l Buffer P2, 温和地上下翻转 8-10 次使菌体充分裂解。

**注意：温和地混合，不要剧烈震荡，以免污染基因组 DNA。此时菌液应变得清亮粘稠，如果未变得清亮，可能由于菌体过多，裂解不彻底，应减少菌体量。**

5. 向离心管中加入 350  $\mu$ l Buffer P5, 立即快速地上下颠倒混匀 20 次，此时将出现白色絮状沉淀。12,000 rpm 离心 2 min。

**注意：Buffer P5 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。**

6. 将吸附柱放入收集管中，然后将上一步离心收集的上清液用移液器转移到吸附柱中，注意尽量不要吸出沉淀。12,000 rpm 离心 30 sec, 倒掉收集管中的废液，将吸附柱放入收集管中。

7. 向吸附柱中加入 300  $\mu$ l Buffer DWQ (请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 2 min。

8. 小心将吸附柱从收集管中取出并置于新的 1.5 ml 离心管中 (弃去收集管), 加入 60-100  $\mu$ l Buffer TB 至吸附膜的中间部位, 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1min 将质粒 DNA 溶液收集到离心管中。

**注意：如果取出时吸附柱底部沾到收集管中液体，需要 12,000 rpm 离心 1 min 进行去除。洗脱缓冲液体积不应少于 60  $\mu$ l, 体积过小影响回收效率。洗脱液的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。**