质粒小提中量试剂盒说明书

货号： QR1015　　**规格：** 50T/100T/200T

保存： 常温保存，复检期 1 年。**(注:RNaseA 以附件形式发货，收到未使用前请-20℃保存)**

试剂盒内容

试剂盒组成	QR1015-50T	QR1015-100T	QR1015-200T
RNaseA	400 μL	800 μL	1600 μL
溶液Ⅰ	30 mL	60 mL	120 mL
溶液Ⅱ	30 mL	60 mL	120 mL
溶液Ⅲ	40 mL	80 mL	160 mL
漂洗液Ⅰ	30 mL	48 mL	96 mL
漂洗液Ⅱ	20 mL	15 mL×2	15 mL×4
洗脱液	30 mL	60 mL	120 mL
吸附柱	50 个	100 个	200 个
收集管	50 个	100 个	200 个
说明书	1 份	1 份	1 份

产品说明：

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞，根据离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的 DNA 的原理特异性提取质粒 DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料能高效、专一地吸附 DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。使用本试剂盒提取的质粒 DNA 可适用于各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、连接和转化等试验。

使用前请先在漂洗液Ⅱ中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶体上的标签。溶液Ⅰ在使用前先加入 RNaseA(将试剂盒中提供的 RNaseA 全部加入)，混匀，置于 2-8℃保存。如非指明，所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

操作步骤（仅供参考）：

1、取 10-15mL 细菌培养物，12000rpm 离心 1min，尽量吸除上清(可以通过多次离心将菌体沉淀收集到一个 2mL 离心管中)。

2、向留有菌体沉淀的离心管中加入 500μL 溶液Ⅰ(请先检查是否已加入 RNaseA)，使用移液器或旋涡振荡器彻底悬浮细菌细胞沉淀。注意:如果菌块未彻底混匀，会影响裂解导致质粒提取量和纯度偏低。

3、向离心管中加入 500μL 溶液Ⅱ，温和地上下翻转 6-8 次使菌体充分裂解。注意:混匀一定要温和以免污染细菌基因组 DNA，此时菌液应变得清亮粘稠，作用时间不要超过 5min，以免质粒受到破坏。

4、向离心管中加入 700μL 溶液Ⅲ，立即温和地上下翻转 6-8 次，充分混匀，此时会出现白色絮沉淀。12000rpm 离心 10 min，用移液器小心地将上清转移到另一个干净的离心管中，尽量不要吸出沉淀。注意:溶液Ⅲ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。

5、将上一步所得上清液分次加入吸附柱中(吸附柱加入收集管中)，空温放置 2min，12000rpm 离心 1min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

6、向吸附柱中加入 500μL 漂洗液Ⅰ，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

7、向吸附柱中加入 700μL 漂洗液Ⅱ**(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)**，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

8、向吸附柱中加入 700μL 漂洗液Ⅱ，12000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。

9、12000rpm 离心 2min，将吸附柱敞口置于室温或 50℃温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。

10、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加 100-300μL 经 65℃水浴热的洗脱液，室温放置 2min，12000rpm 离心 1min。

11、为了增加质粒的回收效率，可将得到的洗脱液重新加入吸附柱中，室温放置 2min，12000rpm 离心 1min。

注意事项：

1、使用前请先检查溶液Ⅱ和溶液Ⅲ是否出现混浊，如有混浊现象，可在 37℃水浴中加热几分钟，待溶液恢复澄清后再使用。溶液Ⅱ、溶液Ⅲ、漂洗液Ⅰ和漂洗液Ⅱ使用后应立即拧紧盖子。

2、洗脱缓冲液体积不应少于 100μL，体积过小影响回收效率；洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响，若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围)，pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率，DNA 产物应保存在-20℃，以防 DNA 降解。

3、DNA 浓度及纯度检测：得到的质粒 DNA 纯度与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。得到的 DNA 可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD_{260} 处有显著吸收峰，OD_{260} 值为 1 相当于大约 50ug/mL 双链 DNA、40ug/mL 单链 DNA。OD_{260}/OD_{280} 比值应为 1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为 pH 值和离子存在会影响吸光值，但并不表示纯度低。

相关产品：

QR1213	质粒小量提取试剂盒
SW2210	6×DNA Loading Buffer
SW2211	10×DNA Loading Buffer
SW2300	Qizyme® Green 核酸染料
QR1010	2 × Qizyme® 高保真 PCR 预混液/含染料
QR1001	高保真 DNA 聚合酶
QR1008	QizymeTM 多片段一步克隆试剂盒