

天
净
沙
系
列

CAT#:71101-5

常温运输及保存

TIANDZ

一步法大提质粒 DNA_{OUT}

One-Step Max Plasmid DNAout

使用手册 V1.1

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

产品及特点

本产品是在天泽基因一步法质粒 DNAout 2.0 (CAT#: 70903) 基础上开发的、能够快速从 100 mL 左右的 E.coli 培养液中取质粒 DNA 的产品。它只需要一种溶液即可以完成细菌裂解，并且裂解物可以直接上柱纯化质粒 DNA。

它比经典的碱变性质粒制备方法更加快捷和方便。本产品的主要特点是：

1. 快速，整个质粒 DNA 提取过程只需要不到 30 分钟，比传统的碱变性方法快捷。
2. 超螺旋比例高，独创的非碱法一步式细菌裂解技术，避免了强碱对 DNA 的损害，得到的质粒 DNA 切口更少。
3. DNA 纯度高，几乎没有基因组 DNA 和 RNA 污染，OD260/280 一般在 1.7-1.9 之间。
4. DNA 可以直接用于电泳、酶切、PCR、细菌转化、分子克隆等实验。
5. 最大吸附量为 600 ug DNA，具体产率取决于质粒拷贝数。
6. 过程简单，重复性和稳定性好。

规格及成分

成份	编号	大纸盒包装
溶液 A	70903a	70 mL
大离心吸附柱	90303	5 套
专用洗柱液	70903b	50 mL×2
DNA 洗脱液 2.0	111205	10 mL
使用手册	71101sc	1 份

运输及保存

常温运输及保存（溶液 A 需要 4℃ 保存），有效期一年。

自备试剂

无

使用方法

1. 用 50 mL 离心管分数次收集 10-60 mL 新鲜的菌液，一般可以 5000 rpm 离心 10 分钟，去除上清即得细菌沉淀。
2. 往细菌沉淀中加入 14 mL 溶液 A，充分振荡悬浮或吹打混匀。注意：充分重悬细胞沉淀（无块状物）对于获得高的质粒产量十分重要。
3. 将裂解液全部转移到大离心吸附柱中，放入到配套的收集管中。
4. 6000 rpm 离心 5-10 分钟，弃穿透液。离心过滤柱将吸附溶液中的质粒 DNA，而将基因组 DNA 和杂质在穿透液中。如果离心吸附柱中还有未离心下去的裂解液，可以适当延长离心时间直到离心吸附柱中没有残留液体。
5. 将 10mL 通用预洗液加入到离心吸附柱中，室温静置 2 分钟后 6000 rpm 离心 5 分钟，弃穿透液。
6. 重复上步一次。

	<ol style="list-style-type: none"> 7. 将 10mL 通用洗柱液加入到离心吸附柱中，室温静置 2 分钟后 6000 rpm 离心 5 分钟，弃穿透液。 8. 重复上步一次。 9. 室温 6000 rpm 空甩 5 分钟，弃穿透液。注意：此步很重要，不能跳过。 10. 将离心吸附柱放入一个自备的、干净的 50 mL 塑料离心管中，加 1 mL 通用洗脱液（洗脱液如加热到 50-65℃效果更佳），室温静置 2 分钟后 6000 rpm 离心 5 分钟，收集液即是质粒 DNA 溶液。 11. 重复上步 1 次以便洗脱更多的质粒 DNA。 12. 合并所得质粒 DNA，立即使用或-20℃储存。
<p style="text-align: center;">注意事项</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 细菌培养时间一般为 12-16 小时，但接种量大时应减少时间。过度培养会降低质粒的质量甚至导致质粒 DNA 突变。 2. 菌体过多会造成裂解液粘稠透，需要充分吹打，否则容易堵塞离心柱。 3. 通用洗柱液洗涤离心柱后必须甩干一次，否则残留通用洗柱液中的乙醇会干扰后续实验。 4. 质粒的具体产量跟细菌量、质粒拷贝数、质粒大小和操作规范程度密切相关。一般 1.5 mL 过夜培养菌体可收获约 10 ug 高拷贝质粒。 5. 从生长旺盛的细菌中纯化的质粒在电泳中表现为 2-3 条带有时甚至为 4-6 条带均属正常，它们就是还未来得及分开的相套的质粒，易被误判为基因组 DNA。
<p style="text-align: center;">关联产品</p>	<p>一步法质粒 DNA_{OUT} (CAT#: 70903)</p>