

版本号: FDL0309

## 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: D905

#### 产品内容:

产品组成	D905 (50 preps)
RNase A(10 mg/ml)	150 $\mu$ l
Buffer BL	30 ml
Buffer P1	15 ml
Buffer P2	15 ml
Buffer P5	20 ml
Buffer DWQ	10 ml
Buffer EB	15 ml
DNAPure Spin Columns	50 个
2 ml Collection Tubes	50 个

#### 储存条件:

本试剂盒可置于室温 (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. 使用前请检查平衡液 BL, 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。
3. 注意不要直接接触 Buffer P2 和 P5，使用后应立即盖紧盖子。
4. 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×g)。
5. 提取的质粒量与细菌培养浓度、质粒拷贝数等因素有关。

## 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 Spin Column 中（吸附柱放入收集管中）加入 500 µl 的 Buffer BL，12,000 rpm(~13, 400×g)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 (~13, 400×g) 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 μl 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和纯度很关键，重悬后应看不到细菌团块。**

4. 向离心管中加入 150 μl 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，以免被基因组 DNA 污染。此时菌液应变得清亮粘稠，**

**操作时间不应超过 5min，以免破坏质粒。如液体未变得清亮，可能由于菌体太多，裂解不彻底，应减少菌体量。**

5. 向离心管中加入 350 μl 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 (~13, 400×g) 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 (~13, 400×g) 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 μl Buffer DWQ (请先检查是否已加入无水乙醇)，12,000 rpm (~13, 400×g) 离心 2 min。

8. 将吸附柱放入收集管中，12,000 rpm (~13, 400×g) 离心 2min，去除吸附柱中残余的漂洗液。

**注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的实验（酶切、PCR 等）实验。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，建议将吸附柱开盖，置于室温放置数分钟，以彻底晾干残留的漂洗液。**

9. 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 μl Buffer EB 至吸附膜的中间部位，室温放置 1 min，12,000 rpm (~13, 400×g) 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 (~13, 400×g) 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。如后续进行测序实验，需使用 ddH<sub>2</sub>O 做为洗脱液，并保证其 pH 值在 7.0-8.5，pH 值低于 7.0 会使洗脱率下降。