
Plasmid MiniPred Kit

产品名称	产品编号
Easy PCR Purification Kit	P50/P200

产品保存：试剂盒在室温(15-25℃)干燥条件下保存一年。

产品说明：本试剂盒采用改良的碱裂解法裂解大肠杆菌细胞，利用硅胶膜离心柱特异地吸附 DNA，可从 ≤ 20 mL LB 培养基培养的大肠杆菌细胞中高效地提取质粒 DNA，最大提取量可达40 μ g。溶液包含指示剂，通过颜色的变化，指示裂解、中和是否完全，从而保证质粒提取的质量，实验操作的可视化。提取的质粒 DNA 可直接用于酶切、连接、转化、测序等多种实验。

试剂盒组成（见下页）

Component	PP50	P0200
Buffer P1	15 mL	60 mL
Buffer P2	15 mL	60 mL
Buffer N3	20 mL	80 mL
Wash buffer	10 mL	40 mL
Elution Buffer	5 mL	10 mL
RNase A(10 mg/ml)	150 uL	600 uL
Collection Tubes	50 个	200 个

注：使用前，将RNase A加入Buffer P2中，2-8℃保存；加入推荐体积的无水乙醇至Wash buffer中。

LB Midea	Buffer P1	Buffer P2	Buffer N3
≤ 5 mL	250 μL	250 μL	350 μL
5-10 mL	500 μL	500 μL	700 μL
10-15 mL	750 μL	750 μL	1050 μL
15-20 mL	1000 μL	1000 μL	1400 μL

操作步骤

- 1、取过夜培养的菌液，10000 rpm 离心1分钟，去上清（尽量吸尽）。如果菌液量过大，可分多次离心收集。
- 2、根据上表，加入Buffer P1（含RNase A），振荡悬浮细菌沉淀，不要残留小的菌块。
- 3、根据上表，加入Buffer P2，温和地上下翻转混合4-6次，使菌体充分裂解，形成透亮的溶液。
- 4、根据上表，加入Buffer N3，轻轻混合5-6次，直至形成紧实的黄色凝集块，室温静置2分钟。
- 5、12000 rpm 离心5分钟，小心地吸取上清加入收集柱中。12000 rpm 离心1分钟，弃流出液。如上清体积大于800 μ l，可以分多次加入收集柱中，并同上离心，弃流出液。
- 6、加入650 μ L Wash buffer，12000 rpm 离心1分钟，弃流出液。
- 7、12000 rpm 离心1-2分钟，彻底去除残留的Wash buffer。
- 8、将收集柱置于一干净的离心管中，开盖静置1分钟，在柱的中央膜上加入30-50 μ L 的 Elution Buffer 或 ddH₂O，室温静置1分钟。10000 rpm 离心1分钟，洗脱 DNA，洗脱出的DNA 于-20℃保存。

注意事项

- 所有离心均在室温下进行。
- 加入Buffer P2 或 Buffer N3后，操作一定要温和，剧烈混合会导致基因组污染。
- 使用时，将试剂盒携带的 RNase A 全部加入到 Buffer P1 溶液中，混合均匀，2-8℃保存。
- 检查 Buffer P2 是否由浑浊，如有可在37℃水浴中加热几分钟，使用后应立即盖紧盖子，以免 pH 值发生变化。
- Buffer P1, Buffer P2, Buffer N3的用量请严格按照说明书，菌体量过大会导致裂解不充分，影响质粒 DNA 的得率及纯度。