

CAT#: GZ010101



GeneZe

高纯度质粒小提试剂盒

HiPure Mini Plasmid Kit

(离心柱型)

使用手册 V1.0

江苏晨逸京泽生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址: www.cygeneze.com; 电话: 40001-40007



💡 产品及特点

本试剂盒用于高纯度质粒 DNA 的小量制备。菌体经碱裂解、高盐、低 pH 处理，质粒可从菌体中释放出来，并特异、高效地被离心吸附柱吸附。通过清洗液的洗涤可去除杂质，在低盐、高 pH 条件下洗脱，最后得到纯度较高的质粒 DNA。使用本试剂盒每次可处理 1~5 ml 过夜培养的菌液，所得质粒可直接用于酶切、转化、PCR、测序及转染等各种分子生物学实验。它具有下列特点：

1. 快捷、高效：操作简便，得率高，节约时间；
2. 纯度高：沉淀致密，去杂干净。

📋 成分规格

产品组成	GZ010101-50	GZ010101-100	GZ010101-200
Buffer BL	25 ml	50 ml	100 ml
Buffer S1	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer S2	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer S3	20 ml	40 ml	80 ml
Buffer W1 (concentrate)	13 ml	26 ml	52 ml
Buffer W2 (concentrate)	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer EB	10 ml	10 ml	30 ml
RNase A (10 mg/ml)	150 ul	300 ul	600 ul
Spin Column with Collection Tubes	50 套	100 套	200 套

(注意：使用前将全部 RNase A 溶液加到 Buffer S1 中混合均匀，2 - 8°C 保存;按要求在 Buffer W1 和 W2 中加入无水乙醇)

➤ 保存条件

在室温(15~25°C)干燥条件下，可保存 12 个月；更长时间的保存可置于 2~8°C。若溶液产生沉淀，应在使用前置于 37°C 下溶解沉淀。加入 RNase A 后的 Buffer S1 应置于 2~8°C 保存，可稳定保存 6 个月。



使用方法

柱平衡：向吸附柱中（吸附柱放入收集管中）加入 400 μ l 的平衡液 BL，12,000 rpm (-13,400 \times g) 离心 1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）

1. 取 1~5 ml 过夜培养的菌液，室温 12,000 rpm 离心 1 min，尽量将上清去除干净。

（注意：根据菌液的浓度决定取液量，浓度高时取 1.5 ml 菌液离心即可，浓度低时可多收集一次）

2. 加入 250 μ l Buffer S1，旋涡震荡或用移液器充分吹打使菌体重悬均匀。

（注意：菌体沉淀一定要悬浮均匀，如有未彻底悬浮的菌块会影响裂解，导致提取的质粒浓度及纯度降低）

3. 加入 250 μ l Buffer S2，温和颠倒混匀使菌体完全裂解，直到溶液变成清亮、粘稠。

（注意：不可剧烈震荡，以免造成基因组 DNA 片段的污染，所用时间不要超过 5 min，以免质粒受到破坏，如未完全变得清亮，可能是菌体太多，可增加 Buffer S2 的用量，在后续的操作中 Buffer S3 的用量也要相应增加）

4. 加入 350 μ l Buffer S3，立即颠倒混匀 6-8 次，可见白色沉淀物产生，室温静置 2 min，然后 12,000 rpm 离心 5 min。

（注意：Buffer S3 加入后应立即混匀，避免产生局部沉淀）

5. 小心将上清液转移到离心吸附柱中，12,000 rpm 离心 0.5 min，弃收集管中滤液。

6. 【可选步骤】向吸附柱中加入 500 μ l Buffer W1，12,000 rpm 离心 0.5 min，弃收集管中滤液。

（注意：Buffer W1 为浓缩液，按要求加入无水乙醇，用后应立即盖紧瓶盖，以防酒精挥发。如果宿主菌是 endA⁻，如 DH5 α 或 TOP10，此步骤可省略。如果宿主菌是 endA⁺，如 TG1、BL21、HB101、JM101 等，此步骤不可省略，因这些宿主菌含有大量的核酸酶，易降解质粒。如果提取低拷贝质粒也推荐采用此步骤）

7. 加入 600 μ l Buffer W2，室温 12,000 rpm 离心 0.5 min，弃收集管中滤液。

（注意：Buffer W2 为浓缩液，按要求加入无水乙醇，用后应立即盖紧瓶盖，以防酒精挥发）

8. 加入 500 μ l Buffer W2，室温 12,000 rpm 离心 0.5 min，弃收集管中滤液。

9. 干燥。将离心吸附柱于 12,000 rpm 离心 2 min，甩干残留漂洗液。

（注意：此步不能省略，否则残留乙醇会影响质粒的后续使用）

10. 将吸附柱置于一新的无菌 1.5 ml 离心管（自备）中，加入 50~100 μ l 的洗脱液

Buffer EB，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 1 min，离心管底溶液即质粒 DNA。

（注意：为增加洗脱效率，可将洗脱液在 60 $^{\circ}$ C 预热。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其



pH 值在 7.0 - 8.5 之间，为了增加质粒回收率，可将得到的溶液重新加入到离心管中，室温放置 2 min，再次离心收集)

低拷贝或大质粒 (>10 kb) 提取

如果所提质粒为低拷贝质粒或大于 10 kb 的大质粒，应加大菌体使用量，使用 5 ~ 10 ml 过夜培养物，同时按照比例增加 Buffer S1、S2、S3 的用量，洗脱液 Buffer EB 应在 60°C 水浴预热，在吸附和洗脱时可以适当延长时间，以增加提取效率。其它步骤相同。

注意事项

- 细菌培养时间一般为 12 ~ 16 小时，如接种量大则应减少培养时间，过度培养会降低质粒质量甚至导致质粒 DNA 突变；
- 每次使用时都应注意 Buffer S2 和 S3 是否形成沉淀，如有沉淀 37°C 溶解后再用；
- 注意 Buffer S1, S2 和 S3 的用量比例，若细菌量增大，需按比例放大这些溶液的使用量；
- 质粒的产量跟细菌量、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。



关注京泽微信公众号

了解更多产品资讯