

Oriscience Plasmid Mini Extraction Kit

(质粒小提试剂盒)

产品信息

货号	名称	规格
NB102-50 T	Oriscience Plasmid Mini Extraction Kit (质粒小提试剂盒)	50 T
NB102-100 T	Oriscience Plasmid Mini Extraction Kit (质粒小提试剂盒)	100 T
NB102-200 T	Oriscience Plasmid Mini Extraction Kit (质粒小提试剂盒)	200 T

产品简介

Oriscience Plasmid Mini Extraction Kit 是一种用于小量质粒快速抽提的离心柱式试剂盒。采用了改进的 SDS 碱裂解法，结合高质量离心吸附柱，达到快速提取质粒 DNA 的目的。本试剂盒无需使用有毒的苯酚，氯仿等试剂，操作时间短，可在 30 min 之内完成。提取的质粒纯净度高，可直接用于酶切、PCR、转化、测序等各种实验。

储存条件

RNase A, -20°C保存;

其他组分, 室温 (15-25°C) 保存。

产品组成

名称	Oriscience Plasmid Mini Extraction Kit			
	NB102-50 T	NB102-100 T	NB102-200 T	储存条件
Equilibration Buffer	25 mL	50 mL	100 mL	15-25°C
Solution I	15 mL	30 mL	60 mL	15-25°C
Solution II	15 mL	30 mL	60 mL	15-25°C
Solution III	20 mL	40 mL	80 mL	15-25°C
Wash Buffer	20 mL	40 mL	80 mL	15-25°C
Elution Buffer	10 mL	20 mL	40 mL	15-25°C
RNase A	150 uL	300 uL	600 uL	-20°C
Plasmid adsorption column (each in a 2 mL Collection Tube)	50 个	100 个	200 个	15-25°C

用前须知

- 首次使用前请短暂离心 RNase A，按试剂瓶标签提示将 RNase A (将试剂盒中提供的 RNase A 全部加入) 加入 Solution I 中，于 2-8°C 保存。
- 首次使用 Wash Buffer 前按试剂瓶标签提示加入无水乙醇 (自备)，于室温保存。
- 温度较低时，Equilibration Buffer 和 Solution II 可能会有沉淀产生，如有沉淀，37°C 水浴加热，溶液恢复澄清后即可正常使用。
- 如所提质粒为低拷贝质粒，建议加大菌体使用量，菌体推荐用量为 5-10 mL，同时等比例增加 Solution I、Solution II 和 Solution III 的用量，在吸附和洗脱时可适当延长延长时间，以增加得率。

自备材料

无水乙醇, 1.5 mL 离心管

使用说明

1. 柱平衡：向吸附柱中加入 500 uL Equilibration Buffer，平衡 30-60 sec，12000rpm 常温离心 1min，弃掉收集管中的废液；

OriNote: 请尽量使用当天处理过的吸附柱，加入平衡液可充分激活硅基质膜，提升得率。

2. 取 1-5 mL 过夜培养的菌液加入离心管中（自备），10,000 rpm 常温离心 1 min，尽量吸净培养基；

OriNote: 菌液较多时可以通过多次离心收集。

3. 加入 250 uL Solution I，充分重悬细菌沉淀；

OriNote: (a) Solution I 在首次使用前须按照瓶子标签所示加入 RNase A，混匀后使用；(b) 如重悬不充分会影响裂解，导致提取量和纯度偏低。

4. 加入 250 uL Solution II，轻柔地上下翻转 10-12 次以混匀，孵育 2-3min，使菌体充分裂解；

OriNote: (a) 切勿剧烈震荡，以免打断基因组 DNA，造成提取的质粒被基因组 DNA 污染；(b) 待菌液变清亮，打开 EP 管盖时会呈现拉丝状后，终止裂解，裂解时间不应超过 5min；(c) 若菌液未变清亮，可能是收集菌体过多，裂解不充分造成，建议减少菌液量。

5. 加入 350 uL Solution III，轻柔地上下翻转 10-12 次以混匀，此时将出现白色絮状沉淀，12,000 rpm 常温离心 10 min；

OriNote: (a) 离心结束后，若上清中还有小粒白色沉淀，可再次离心后收集上清。

6. 将上清液转移至吸附柱（吸附柱已放于收集管）中，12,000 rpm 常温离心 30-60 sec，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中；

OriNote: 避免吸取白色沉淀。

7. 向吸附柱中加入 700 uL Wash Buffer，12,000 rpm 常温离心 30-60 sec，弃掉收集管中的废液，将吸附柱重新放入收集管中；

OriNote: Wash Buffer 在首次使用前须按照瓶子标签所示加入无水乙醇（自备），混匀后使用。

8. 重复操作步骤 7 一次；

9. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm，离心 2 min，去除吸附柱中残余的 Wash Buffer；

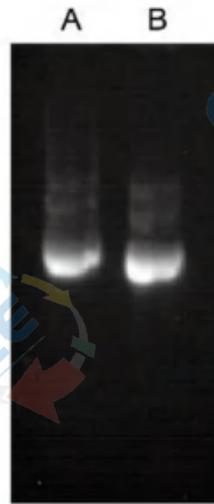
OriNote: 洗涤液中乙醇的残留会影响后续酶反应（酶切，PCR 等）实验，建议将吸附柱开盖，置于室温放置 2-5min 以彻底晾干吸附柱中残留的洗涤液。

10. 将吸附柱放到一个干净 1.5 mL 离心管中，向吸附柱中间位置滴加 30-80 uL Elution Buffer，室温放置 2 min，12,000 rpm 常温离心 2 min 收集质粒 DNA 溶液；

OriNote: 为了提高质粒 DNA 的回收量，可将离心得到的溶液重新加回吸附柱中，室温放置 2 min，12,000 rpm 离心 2 min 重复洗脱，以增加得率。



数据展示



O 品牌质粒提取试剂盒 (A) 与 Oriscience Plasmid Mini Extraction Kit (B) 提取产物电泳结果图

常见问题及解决方法

Q1. 低产量或无 DNA

- 培养的细菌没有转化相应的质粒 DNA 或细菌培养条件不正确。挑选确定含有转化质粒 DNA 的细菌进行培养，并确认细菌培养条件。
- 细菌保存时间过长。细菌在甘油冻存液中保存时间较长，常会出现质粒丢失的现象，可以重新划平板，挑取含质粒的单菌落或重新转化。
- Solution II 出现沉淀。置于 37°C 溶解，混匀后再使用。
- Wash Buffer 没有添加无水乙醇。确认是否添加正确体积的无水乙醇。

Q2. 质粒 DNA 污染

- 加入 Solution II 后剧烈震荡导致基因组 DNA 降解。加入 Solution II 后轻柔混匀，不可剧烈震荡或使用涡旋仪。
- 裂解时间过长。Solution II 加入后立即混匀，裂解时间不要超过 5 min。

Oriscience Biotechnology Co., Ltd.

www.oriscience.com

Tel: 400-158-2128

Emails: order@oriscience.com

technical_support@oriscience.com

