天净沙系列

CAT#:220351

常温运输和保存

天净沙

硅胶膜 DNA 大提离心吸附柱

Large-Scale Silica Membrane DNA Centrifuge Column

共享手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本试剂盒是用于质粒 DNA 大量制备与纯化的试剂盒。菌体先经碱裂解法处理，再通过离心吸附柱，专一结合 DNA，最后洗去杂质，高效快速提取质粒 DNA，全套操作可以在 30 分钟之内完成。使用本试剂盒可从 50-100 mL 过夜培养的菌液纯化得到高达 300-500 ug 的高纯度质粒 DNA(OD260/OD280 = 1.8-2.0)，可以直接用于酶切、转化、测序及 PCR 等。本产品具有下列特点：

1. 快速、步骤少，整个操作在半个小时之内完成。
2. 纯度高，采用本试剂盒提取的质粒 OD 比值在 1.8-2.0 之间。
3. 产量高，每毫升过夜培养的细菌可以提取到 2-5 ug/mL。
4. 用途广，适用于低拷贝和高拷贝质粒。
5. 本产品足够 5 次质粒 DNA 大量纯化。
6. 本产品只可用于科研。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成份	编号	规格	包装
质粒 DNA 大量纯化溶液 A	221095a	26 mL	30 mL 本色瓶
质粒 DNA 大量纯化溶液 B	221095b	26 mL	30 mL 本色瓶
质粒 DNA 大量纯化溶液 C	221095c	36 mL	60 mL 本色瓶
RNase A 溶液（10mg/mL）	220714	0.6 mL	1.5 mL 本色管
DNA 离心吸附柱（大提）	220351	5 套	塑料袋
通用洗柱液	220143	100 mL	120 mL 本色瓶
DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	221095sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，其中 RNase A 溶液需要低温运输、-20℃保存，有效期一年。

自备试剂

50 mL 塑料离心管

使用方法

1. 用 250 mL 离心管收集 100-300 mL 菌液，5000 rpm 离心 10 分钟，去除上清。
2. 往细菌沉淀中加入 5 mL 质粒 DNA 大量纯化溶液 A，充分振荡悬浮（第一次使用时需要将 RNase A 溶液全部加入到溶液 A 中并混合均匀，未用完的、含 RNase A 的溶液 A 需放 4℃保存）。注意：充分重悬细胞沉淀使之无细胞结块状物对于获得高的质粒产量十分重要。
3. 加入 5 mL 质粒 DNA 大量纯化溶液 B，温和翻转 10 余次至蓝色变得均匀。室温放置 5-10 分钟裂解细菌。注意：避免剧烈振荡，否则细菌基因组 DNA

	将断裂为小片段，与质粒难以分离，污染质粒 DNA。质粒 DNA 大量纯化溶液 B 用后需要将盖拧紧存放，否则空气中的二氧化碳会进入溶液，形成碳酸，中和质粒 DNA 大量纯化溶液 B 中的碱，降低其效率。如果质粒 DNA 大量纯化溶液 B 颜色不是蓝色，则表示变质，应该弃之不用并且速跟厂家联系。 4. 加入冰浴的 7 mL 质粒 DNA 大量纯化溶液 C，颠倒混匀，此时混合液应该从蓝色变成无色，如果不发生颜色变化，则表示质粒 DNA 大量纯化溶液 C 变质，需要联系厂家。将混合液冰上放置 10 分钟，将有白色絮状物形成。注意不要过分振荡。 5. 6000 rpm 离心 10 分钟。如果离心管承受能力强，离心速度还可以适当提高以充分沉淀絮状物。 6. 将上清液（约 20 mL）转移到 DNA 离心吸附柱（大提）中，放入 50 mL 套管中。由于此时的溶液比重较大，部分沉淀物悬浮在上清液中属正常，吸取上清时避开漂浮的沉淀物即可。 7. 6000 rpm 离心 5 分钟，质粒 DNA 将与 DNA 离心吸附柱（大提）中的膜结合，弃穿透液。 8. 将 10 mL 通用洗柱液加入到 DNA 离心吸附柱（大提）中，室温静置 2 分钟后 6000 rpm 离心 5 分钟，弃穿透液。 9. 重复上步一次，即将 10 mL 通用洗柱液加入到 DNA 离心吸附柱（大提）中，室温静置 2 分钟后 6000 rpm 离心 5 分钟，弃穿透液。 10. 室温 6000 rpm 空甩 5 分钟，弃穿透液。注意：此步对去除残留通用洗柱液很重要，否则通用洗柱液会影响 DNA 的使用。 11. 将 DNA 离心吸附柱（大提）放入一个自备的、干净的 50 mL 塑料离心管中，加 0.5 mL DNA 洗脱液（洗脱液如加热到 50-65℃效果更佳），室温静置 2 分钟后 6000rpm 离心 5 分钟，收集液即是质粒 DNA 溶液。 12. 本试剂盒中的离心吸附柱吸附能力较强，所以再用 1 mL DNA 洗脱液洗脱 3-4 次才能把绝大部分质粒 DNA 洗脱下来。得到的 DNA 可以收集在一起立即使用或存放于-80℃待用。注：如果 DNA 洗脱液不够，可以用自备的 DEPC 水代替。注：一般情况下，第一次洗脱可以洗脱约 25%的质粒 DNA；第二次洗脱可以洗脱约 35%的质粒 DNA；第三次洗脱可以洗脱约 20%的质粒 DNA；第四次洗脱可以洗脱约 10%的质粒 DNA；第五次洗脱可以洗脱约 8%的质粒 DNA。 13. 合并所得质粒 DNA，立即使用或-20℃储存。如果需要使用液相内毒素清除

	剂清除质粒 DNA 中的内毒素，可以直接将此步所得的 DNA 溶液用于去内毒素处理。如果 DNA 浓度太低，可以另购本公司的核酸浓缩剂进行浓缩。
关联产品	质粒 DNA 纯化试剂盒（过柱法）

20230717zxl