

Presto™ Mini Plasmid Kit 质粒小提试剂盒

仅供科研使用

产品编号

PDH004, PDH100, PDH300

完整说明书(英文)下载

如果您是第一次使用本产品或对本产品的操作步骤不熟悉,请您经由扫描QR code下载并详阅完整说明书

Geneaid



Instruction Manual Download

1. 菌体收集

取1-7ml过夜培养的菌液,加入1.5ml微量离心管中,使用常规台式离心机,以14-16,000×g离心1分钟,尽量吸除上清液(菌液较多时可以通过多次离心将1.5-7.0 ml菌体沉淀收集到一个离心管中)。

2. 菌体悬浮

取200µl溶液PD1(请先检查是否已加入RNaseA),加入另一1.5 ml微量离心管中。取2µl溶液TrueBlue Lysis加入同一1.5ml微量离心管中混匀(若有沉淀产生为正常现象)。向留有菌体沉淀的离心管中加入上述200µl溶液PD1,使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀。注意:如果有未彻底混匀的菌块,会影响裂解,导致提取量和纯度偏低。

3. 细胞裂解

向离心管中加入200µl溶液PD2,温和地上下翻转6-8次使菌体充分裂解,于室温下放置2分钟,所用时间不应超过5分钟。注意:加入溶液PD2后,样品悬浮液会变成蓝色。若仍有部分样品悬浮液呈现无色,继续翻转混合样品直到所有悬浮液呈现蓝色。

4. 中和

向离心管中加入300µl溶液PD3,立即温和地上下翻转6-8次,充分混匀。注意:加入溶液PD3后将出现白色絮状沉淀,样品悬浮液呈现无色。若仍有部分样品悬浮液呈现蓝色,继续翻转混合样品直到所有悬浮液呈现无色。

5. 吸附

以14-16,000×g离心3分钟。若使用超过5ml菌液,以14-16,000×g离心5-8分钟。离心时,将吸附柱PDH放入2ml收集管中。将收集的上清液用移液器转移到吸附柱PDH中,注意尽量不要吸出沉淀。以14-16,000×g离心1分钟,倒掉收集管中的废液,将吸附柱PDH放入收集管中。

6. 漂洗

- 1.可选步骤:产物进行测序实验使用。向吸附柱PDH中加入400µl漂洗液W1,以14-16,000×g离心30秒,倒掉收集管中的废液,将吸附柱PDH重新放回收集管中。
- 2.向吸附柱PDH中加入600µl漂洗液Wash(请先检查是否已加入无水乙醇),以14-16,000×g离心30秒,倒掉收集管中的废液,将吸附柱PDH放入收集管中。以14-16,000×g离心3分钟将吸附柱中残余的漂洗液去除。

7. 洗脱

将吸附柱PDH置于一个干净的1.5ml微量离心管中,向吸附膜的中间部位滴加30-100µl洗脱缓冲液,室温放置2分钟,以14-16,000×g离心2分钟将质粒溶液收集到离心管中。

注意:

- 1.为了增加质粒的回收率,可将得到的溶液重新加入吸附柱中,室温放置2分钟,以14-16,000×g离心2分钟将质粒溶液收集到离心管中。
- 2.如果所提质粒为大于10kb的大质粒,洗脱缓冲液EB应在60°C水浴预热。
- 3.如果使用ddH₂O做洗脱液,需保证其pH值≥8.0, pH值低于8.0会降低洗脱效率。