

CAT#: GZ010111

---



# 革兰阳性菌质粒小提试剂盒

(离心柱型)

G+ Bacteria Mini Plasmid Purification Kit

**使用手册 V2.1**

北生京泽（启东）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.bsgeneze.com；电话：40001-59600

## 产品及特点

本试剂盒用于革兰氏阳性（G+）细菌小量制备质粒 DNA。本产品基于改良后的碱变性法，首先菌体经溶菌酶破壁，然后菌体经碱裂解、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 1-4 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                              | GZ010111-50 | GZ010111-100 | GZ010111-200 |
|-----------------------------------|-------------|--------------|--------------|
| Buffer S1                         | 15 ml       | 30 ml        | 60 ml        |
| Buffer S2                         | 15 ml       | 30 ml        | 60 ml        |
| Buffer S3                         | 25 ml       | 50 ml        | 100 ml       |
| Buffer W2 (concentrate)           | 15 ml       | 30 ml        | 60 ml        |
| Buffer EB                         | 10 ml       | 10 ml        | 30 ml        |
| RNase A (20 mg/ml)                | 150 $\mu$ l | 300 $\mu$ l  | 600 $\mu$ l  |
| 溶菌酶干粉 (20 KU /mg)                 | 300 mg      | 550 mg       | 1.1 g        |
| 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℃ 保存；按要求在 Buffer W2 中加入无水乙醇）

## 保存条件

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

## 使用方法

1. 从筛选平板上挑取单菌落至含抗生素的培养基中，37℃震荡培养 12-16 小时（摇床转速 200-300）。

（注意：建议使用 LB 培养基，营养更丰富的培养基会使菌体浓度过高，超过纯化系统处理能力而降低 DNA 质量。另外，延长培养时间会因细胞死亡、裂解而造成质粒 DNA 浓度降低。）

2. 用 1.5 mL 离心管收集 1-4 mL 过夜培养饱和菌液，室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃上清。

（第一次使用本试剂盒时，先将全部 RNase A 溶液全部加入到 Buffer S1 中，摇匀后再取用，未用完的溶液放 4℃保存。）

3. 加入 250 uL Buffer S1，旋涡震荡或用枪头充分吹打使菌体重悬。加入大约 5 mg 溶菌酶干粉，轻柔颠倒混匀后室温放置 10 min 破裂细胞壁。

（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）

4. 加入 250 μl 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）

5. 加入 350 μl Buffer S3，立即颠倒混匀，可见絮状沉淀物产生，然后 12,000 rpm 离心 3 min。

（注意：Buffer S3 加入后应立即混合，避免产生局部沉淀）

6. 将上清液转移到离心吸附柱中，12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中滤液。

7. 加入 600 μl Buffer W2，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，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 μl Buffer W2，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，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 μl 的洗脱液 Buffer EB，室温 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℃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）

## 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；
- 每次使用时都要注意 Buffer S2 和 S3 是否形成沉淀，如有沉淀 37℃ 溶解后再用；
- 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。

## 关联产品

| 产品编号         | 产品名称                     |
|--------------|--------------------------|
| GZ070101-500 | GeneRed 核酸染料             |
| GZ070102-500 | Geneblue 核酸染料            |
| GZ010101-50  | 高纯度质粒小提试剂盒               |
| GZ010103-25  | 高纯度质粒大提试剂盒               |
| GZ010105-50  | 快速质粒小提中量试剂盒              |
| GZ010108-50  | 无内毒素质粒小提中量试剂盒            |
| GZ020101-1   | 2×Taq PCR MasterMix（含染料） |
| GZ020701-1   | 2 × Probe qPCR Mix       |
| GZ020801-1   | 2×SYBR qPCR Mix          |



关注京泽微信公众号  
了解更多产品资讯