



快速质粒小量提取试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100002

产品介绍

本试剂盒对传统的碱裂解法进行了优化，可以在 8 min 内获得高质量的质粒 DNA。本品采用先进的硅胶膜吸附技术，且优化的裂解液能使离心吸附柱在短时间内高效、特异地吸附质粒 DNA，且最大限度地除去蛋白质、多糖和 RNA 等其它杂质。本试剂盒适用于提取 1 ~ 5 mL 过夜培养的大肠杆菌，质粒提取得率和质量与宿主菌的种类、培养条件、质粒拷贝数、质粒稳定性、抗生素等因素有关。

使用本试剂盒提取的质粒 DNA 纯度高，能够直接用于酶切、PCR、连接、测序、转化等一系列常规生物学实验。

产品目录

产品名称	规格
快速质粒小量提取试剂盒	50 rxns
	200 rxns

产品组成

组分	50 rxns	200 rxns
重悬液 P1	15 mL	60 mL
裂解液 P2	15 mL	60 mL
中和液 SP3	25 mL	100 mL
漂洗液 PW	6 mL	24 mL
洗脱液 EB	15 mL	30 mL
RNase A (10 mg/mL)	150 µL	600 µL
指示剂溶液	75 µL	300 µL
吸附柱 E8	50 个	200 个
收集管	50 个	200 个

产品用途

用于 1 ~ 5 mL 菌液低拷贝或高拷贝质粒提取。

产品特点

高效、快速，得到的质粒 DNA 质量高。

注意事项

- 重悬液 P1 在使用前需加入 RNase A 和指示剂溶液（将试剂盒内提供的 RNase A 和指示剂溶液全部加入），混匀，置于 2 ~ 8℃ 保存。
- 首次使用前请按漂洗液 PW 瓶子标签所示，加入定量的无水乙醇，混匀，室温保存。
- 使用前请先检查裂解液 P2 和中和液 SP3 是否出现浑浊，如有浑浊现象，可 37℃ 条件下温浴至溶液澄清，混匀后再使用。
注意：不要直接接触裂解液 P2 和中和液 SP3，使用时应戴手套，使用后应立即盖紧盖子。
- 提取的质粒得率和质量与宿主菌的种类、质粒拷贝数、稳定性等因素有关。
- 指示剂的使用方法：本试剂盒添加指示剂用于指示整个操作的正确性，对人体无害。使用时将试剂盒内配备的指示剂全部加入重悬液 P1 中进行混匀，混匀后的重悬液 P1 为澄清的红色。将重悬液 P1 加入到收集好的菌体中混



匀，混匀后的溶液为浑浊的橙色；添加裂解液 P2 彻底混匀后，溶液变为澄清的紫红色，则说明充分裂解；再添加中和液 SP3 混匀后，溶液为澄清的黄色，说明充分中和复性。

操作步骤

1. 取 1~5 mL 过夜培养的大肠杆菌菌液，加入离心管中，12000 rpm（13400×g）离心 1 min，尽量吸除上清液。
注意:菌液较多时可以通过多次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中，菌体量以能够充分裂解为佳，裂解不充分会降低质粒的提取产量。
2. 向留有菌体沉淀的离心管内加入 150 μL 重悬液 P1（请检查是否已加入 RNase A 和指示剂），使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮菌体沉淀。

注意：彻底重悬菌体沉淀对产量很关键，重悬后应看不到菌体团块，若存在团块，会影响裂解过程，导致得率和产量降低。
3. 向离心管中加入 150 μL 裂解液 P2，温和地上下翻转 8~10 次，使菌体充分裂解。
注意：此步骤应温和地混匀，剧烈振荡或涡旋会引起基因组 DNA 断裂，造成污染。此时菌液应该变成红色且清亮粘稠，表明细菌裂解充分。若菌液未变清亮，可能由于菌体过多导致裂解液不彻底，应适当减少菌体量。
4. 向离心管中加入 350 μL 中和液 SP3，立即温和地颠倒混匀至完全变黄色，此时会出现絮状沉淀，12000 rpm（13400×g）离心 2 min。
5. 将吸附柱置于收集管中，吸取上一步骤的上清液转移到吸附柱中（尽量不要吸取沉淀），12000 rpm（13400×g）离心 30 s，倒掉收集管中的废液，把吸附柱重新放回收集管中。
6. 向吸附柱中加入 400 μL 漂洗液 PW（请先检查是否已加入无水乙醇），12000 rpm（13400×g）离心 30 s，倒掉收集管中的废液，把吸附柱重新放回收集管中。
7. 12000 rpm（13400×g）离心 1 min，去除吸附柱中残余的漂洗液 PW。
8. 将吸附柱置于一个新的 1.5 mL 离心管中，加入 50~100 μL 的洗脱液 EB，12000 rpm（13400×g）离心 30 s 洗脱 DNA，提取到的质粒 DNA 于-25~-15℃保存。
注意：洗脱液体积不应少于 50 μL，体积小会影响回收效率。将洗脱液 55℃预热或二次洗脱可以提高质粒洗脱效率。

储存条件及运输条件

15~30℃保存 12 个月。单独包装的 RNase A 在室温可保存 12 个月。加入 RNase A 和指示剂的重悬液 P1 应置于 2~8℃保存，可稳定保存 6 个月。
常温（15~30℃）运输。

常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
质粒产量低	低拷贝质粒	建议适当提高菌液投入量，并按比例增加重悬液 P1、裂解液 P2 和中和液 SP3 的用量；预热洗脱液至 65~70℃，且适当延长吸附和洗脱时间，以提高提取得率。
	试剂准备错误	确保重悬液 P1 使用前已加入全部 RNase A。裂解液 P2 久置或低温时会有沉淀析出，需加热溶解或放置 37℃恒温箱中至清亮方可使用。确保裂解液 PW 加入正确体积的无水乙醇。
	菌液制备或保存不当	菌液摇菌时间过长或污染发生溶菌现象会导致质粒降解，应尽量选用新鲜菌体进行操作，细菌的培养时间不要超过 16 h，最好控制在 12~14 h。
	重悬不充分	重悬细菌对产量非常关键，确保菌体沉淀彻底悬浮至看不到细胞团块；成团的细菌因无法裂解会降低产量。
	裂解不充分	按照说明书操作及要求，逐步操作；减少菌体用量；或适当等比例增加重悬液 P1、裂解液 P2 和中和液 SP3 的用量。



	洗脱不充分	将洗脱液加热到 55℃；确保滴加到吸附柱膜中央，二次洗脱。
	吸附柱长期置于高温等不良环境	建议长期保存置于 2~8℃中，或使用前加入 100 μL 的 3 M NaOH 溶液过柱激活柱膜后使用。
质粒纯度低	RNA 残留	确保加入 RNase A 和指示剂的重悬液 P1 在 2~8℃保存；减少菌液用量。
	基因组 DNA 残留	加入裂解液 P2 后避免剧烈振荡；缩短裂解时间。
	盐离子残留	加入漂洗液后颠倒混匀 2~3 次；加入漂洗液后静置 1 min。

