

转化级质粒少量提取 II 型试剂盒

E.Z.N.A.[®] Plasmid DNA Mini Kit II

货号	D6945-00	D6945-01	D6945-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind [®] DNA Mini Columns II	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	5 个	50 个	200 个
Solution I	5 mL	30 mL	120 mL
Solution II	5 mL	30 mL	120 mL
Solution III	5 mL	40 mL	160 mL
HBC Buffer	4 mL	20 mL	80 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	15 mL	2 x 30 mL
RNase A	Pre-Added	100 μ L	400 μ L
Elution Buffer	5 mL	10 mL	30 mL
User Manual	✓	✓	✓

★ 保存方式及稳定性

- 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
- 收到试剂盒后，请把 RNase A 置于-20°C作长期保存；
- RNase A 加入到 Solution I 后请置于 2-8°C保存；
- Solution II 在不使用时，请务必拧紧瓶盖，避免长时间暴露于空气中；
- 当贮存温度较低时，HBC Buffer、Solution II 及 Solution III 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C中，至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用。
- 本试剂盒仅限科学研究使用。

★ 实验前准备

- 将整管 RNase A 加入 Solution I 瓶内，混匀后 2-8°C保存；
- 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，使用【异

丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后均置于室温保存。

货号	DNA Wash Buffer 稀释 无水乙醇 加入量	HBC Buffer 稀释 异丙醇 加入量
D6945-00	8 mL	1.6mL
D6945-01	60 mL	8 mL
D6945-02	120 mL (每瓶)	32 mL

★ 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 无水乙醇、异丙醇
- ✓ 离心速度可达 13,000xg 的离心机
- ✓ 离心速度可达 5,000xg 的吊篮式离心机
- ✓ 涡旋仪
- ✓ 细菌培养瓶
- ✓ 无菌无酶的 1.5 或 2mL 离心管
- ✓ (可选) 无菌水、3M NaOH、温度可达 70°C 的孵育装置

★ 提取步骤 —— 离心方案

1. 取 10~15mL 过夜培养的菌液，室温下 5,000xg 离心 10min，收集菌体；
2. 弃除上清培养基，加入 500 μ L Solution I/RNaseA 混合液，漩涡振荡使细菌完全分散；
注意：Solution I 使用前必须加入 RNase A。
3. 往重悬液中加入 500 μ L Solution II，轻轻颠倒数次混匀，如有必要，可把裂解液置于室温静置 2-3min；
注意：避免剧烈混合裂解液，静置时间不应超过 5min，否则会使染色体 DNA 断裂而使质粒纯度降低。静置时间过长可能会导致质粒 DNA 断裂（当使用完 Solution II 以后，须盖紧瓶盖保存）。
4. 加入 700 μ L Solution III，温和颠倒数次至形成白色絮状沉淀。室温下， \geq 13,000xg 离心 10min；
5. 把 HiBind[®] DNA Mini Column II 套至 2ml 收集管中；

可选柱平衡处理:

- 1) 往空 HiBind[®] DNA Mini Column II 内加入 100 μ L 3M NaOH;
 - 2) 室温下 13,000xg 离心 30-60s, 弃除滤液。
6. 转移不超过 700 μ L 上清液至 HiBind[®] DNA Mini Column II, 室温下最大速度离心 1 min, 弃除滤液;
 7. 重复步骤6直至把步骤5的上清液全部转移通过HiBind[®] DNA Mini Column II;
 8. 把 HiBind[®] DNA Mini Column II 重新装回收集管, 加入 500 μ L HBC Buffer (已加异丙醇正确稀释), 室温下最大速度离心 1 min, 弃除滤液;

注意: HBC Buffer 在使用前必须按照说明书加入异丙醇稀释。

9. 把 HiBind[®] DNA Mini Column II 重新装回收集管, 加入 700 μ L DNA Wash Buffer, 室温下最大速度离心 1 min, 弃除滤液;

注意: DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书加入无水乙醇稀释。

10. (可选) 弃去滤液, 重复第 9 步进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤;
11. 弃去滤液, 把 HiBind[®] DNA Mini Column II 重新装回收集管, 最大速度离心空柱 2min 以甩干结合柱基质;
12. 把 HiBind[®] DNA Mini Column II 装在干净的 1.5mL 离心管上, 加入 80-100 μ L Elution Buffer 到结合柱基质中, 静置 1min, 13,000xg 离心 1min 洗脱出 DNA;

注意: 首次洗脱可获得 65-80%的质粒 DNA, 可按照实际需求进行二次洗脱。

- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱 (可增加产量, 但会导致浓度降低)
 - 将第一次洗脱出的 Elution Buffer 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积)
13. 将洗脱的 DNA 保存在-20 $^{\circ}$ C。

★ 提取步骤 —— 真空抽滤方案

这个方案采用真空抽滤方案来提取质粒, 使用真空抽滤可大大减少离心时间, 减少重复倒弃滤液和加液的过程。使用前请仔细阅读离心方案, 并按离心方案的步骤 1-4 进行细菌的收集, 重悬, 裂解, 中和以及离心去除杂质, 以获得澄清的上清液。

1. 按照离心方案的 1-4 步, 准备好澄清的细菌裂解液;
2. 按英文说明准备真空抽滤器, 把 HiBind[®] DNA Mini Column II 连接到抽滤器;

3. 转移裂解液到 HiBind® DNA Mini Column II，小心不要超过结合柱的容积 (700μL)，用真空抽滤让裂解液通过结合柱，转移剩下的裂解液到结合柱，抽滤，直到所有的裂解液都通过结合柱；
4. 加 500μL HBC Buffer (已加异丙醇稀释) 到 HiBind® DNA Mini Column II，抽滤让液体流过结合柱；
5. 洗涤结合柱：加 700μL DNA Wash Buffer (已加无水乙醇稀释)，抽滤；
6. (可选) 重复步骤 5，进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤；
7. 弃去滤液，把 HiBind® DNA Mini Column II 重新装回收集管，最大速度离心空柱 2min 以甩干结合柱基质；
8. 把 HiBind® DNA Mini Column II 装在新的 1.5mL 离心管上，加入 80-100μL Elution Buffer 到结合柱基质中，静置 1min，13,000xg 离心 1min 洗脱出 DNA；
注意：首次洗脱可获得 65-80%的质粒 DNA，可按照实际需求进行二次洗脱。
 - 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱 (可增加产量，但会导致浓度降低)
 - 将第一次洗脱出的 Elution Buffer 重新加回到柱子中进行二次洗脱 (可增加洗脱浓度但不增加洗脱体积)
9. 将洗脱的 DNA 保存在-20°C。

★ 产品信息卡



原文版本号：July 2019 v5.2

更多详情，请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



中国总代理：广州飞扬生物工程有限公司

技术支持：020-32051125

企业 QQ：800848200 (人工客服在线)

中文网站：**omegabiotek.com.cn**



如需查询代理商名录，请关注“飞扬生物”微信号获取

售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源，请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒，我司恕不提供任何质量保证及售后服务。