



Plasmid Midi Kit 质粒中量提取试剂盒

产品特点

GBC中量抽提试剂盒(Plasmid Midi Kit)采用了一种新型的硅胶柱。在特定条件下,使质粒能在离心过柱的瞬间,结合到质粒纯化柱上,在一定条件下又能将质粒充分洗脱,从而实现质粒的快速纯化。无需酚氯仿抽提,无需酒精沉淀,12个样品只需不足30分钟即可完成。纯化柱的结合力为70 μ g。每个纯化柱可用于抽提10-15ml用LB培养过夜的大肠杆菌。抽提所得质粒的OD值一般在1.80左右。所得质粒质量会受质粒拷贝数等因素影响,所得的质粒可直接用于转细胞, DNA测序, PCR, 基于PCR的突变, 体外转录, 转化细菌, 内切酶消化。

试剂盒组成

产品编号	P7101	P7105	P7106	P7107
次数	5	50	100	200
纯化柱子	5	50	100	200
收集管	5	50	100	200
Solution I	2 ml	28 ml	55ml	110ml
Solution II	2 ml	28ml	55ml	110ml
Solution III	2ml	40ml	75ml	75ml*2
Buffer WB	3ml	30ml	55ml	110ml
DNA Wash Buffer	2ml	13ml	26ml	26ml*2
RNase A	--	50 μ l	200 μ l	400 μ l
说明书	1	1	1	1

储存和稳定性

RNase -20 $^{\circ}$ C保存,其余组分常温保存。自购买日起18个月内有效。

浓缩的DNA Wash Buffer需用无水乙醇按如下稀释:

- P7101 加8 ml; P1105加入52 ml ; P1106与P1107每瓶加入104 ml 无水乙醇

注意事项

- 第一次使用前把试剂盒提供的RNase A全部加到Solution I中, 混匀, 并在瓶上做好标记。加入RNase A后4 $^{\circ}$ C存放。P1101中Solution I含有RNase A。
- 温度较低时, Solution II和Solution III可能会有沉淀产生。使用前必须检查一遍。如有沉淀, 37 $^{\circ}$ C水浴加热溶解, 混匀后使用。Solution II请勿过分剧烈混匀, 否则会产生大量气泡。
- Solution II使用完后, 一定要盖紧瓶盖, 防止被空气中二氧化碳酸化。
- 本试剂盒所有操作均在室温进行, 操作时无需冰浴。所有离心也均在室温进行。
- 为了您的安全和健康, 请穿实验服并戴一次性手套操作。

操作步骤

1. 用2.0ml取过夜菌2.0ml, 5000g离心1分钟收集细菌沉淀, 弃上清。再重复操作, 每管共收集不超过15ml过夜菌沉淀。

大肠杆菌用LB培养过夜(16小时左右)室温离心1分钟, 如沉淀不充分则适当延长离心时间。时间过长或离心速度过快会使沉淀过于紧密, 不利于加入Solution I后散开沉淀。直接倒掉上清, 再倒入约1.5ml菌液并重复上述操作。如果细菌密度明显偏低, 可考虑使用更多菌液, 再重复上述操作1-2次。对于高拷贝质粒所用菌量一般不能超过5ml, 对于低拷贝质粒所用菌量一般不能超过10ml。过量的细菌会导致后续的裂解不充分。

2. 加入500 μ l Solution I, 重悬细菌沉淀。确保沉淀完全散开, 无可见细菌团块。

确认Solution I中已经添加了RNase A。一定要充分混匀, 对着光亮处观察应呈均匀的悬浊液, 无明显细菌团块或絮块。如果没有涡旋器, 可以用枪吹打沉淀使沉淀逐渐散开。

3. 加入500 μ l Solution II, 轻轻颠倒离心管4-6次, 使细菌完全裂解, 溶液透明。

切勿剧烈操作, 否则会导致基因组DNA断裂, 易导致最终所得质粒被基因组DNA污染。颠倒4-6次后, 溶液应变得透明, 无团块或絮状物。

4. 加入700 μ l Solution III, 随即颠倒离心管4-6次混匀, 可见白色絮状物产生。

切勿涡旋! 颠倒次数也不宜过多, 否则易导致最终所得质粒的质量下降。

5. 最高速(12000rpm左右)室温离心10分钟。

6. 将上一步骤离心后的800 μ l上清转移到质粒纯化柱内。最高速离心30-60秒, 倒弃收集管内液体。再把余下的上清转移到对应的纯化柱内, 最高速离心30-60秒, 倒弃收集管内液体。

如果下游的应用对纯度要求不高, 此步可以跳过, 如酶切等。

7. 在质粒纯化柱内加入600 μ l DNA Wash Buffer, 最高速离心30秒, 洗去杂质, 倒弃收集管内液体。

注意: 确保DNA Wash Buffer已按前面的要求加入无水乙醇。

8. 重复第八步用600 μ l DNA Wash Buffer洗涤一次。

9. 最高速再离心1分钟, 除去残留液体并干燥柱子。

注意: 倒弃收集管内液体后再离心, 此步不能忽略。

10. 将质粒纯化柱置于1.5ml离心管上, 加入50 μ l TE或灭菌去离子水至纯化柱上, 放置1分钟。

TE需要直接加至纯化柱面中央, 使液体被膜吸收。TE加入后放置时间稍长, 对于增加质粒产量会略有帮助。

11. 最高速离心1分钟, 所得液体即为高纯度质粒。

可能出现的问题与对策

问题	可能原因	建议
DNA 产量低	细胞裂解率低	不要使用超过 5ml 的高拷贝质粒培养物或低拷贝质粒培养物。 在加入 Solution I 细胞没有充分混匀, 可漩涡振荡悬浮液使之充分混匀。 加入 Solution II 后, 延长孵育时间可获得清晰的裂解液。 如果 Solution II 没有盖紧, 可能需要重配。
	细菌培养物生长过度或不新鲜	不要于 37°C 培养超过 16 小时, 避免培养好的细菌长时间放置。
	使用的是低拷贝数质粒	若 5ml 过夜培养物的产量小于 0.5μg, 增加培养物的体积至 10ml, 所有溶液按倍增加。
没有 DNA 被洗脱出来	没有用乙醇稀释 DNA Wash Buffer	按前面指导的方法准备 DNA Wash Buffer。
产量中有大分子量的 DNA 污染	加入 Solution II 后过分混和细胞裂解液	加入 Solution II 后不要猛烈振荡或摇匀, 轻轻颠倒离心管几次使充分混匀。
琼脂糖凝胶上可见 RNA 带	Solution I 没有加入 RNase A	在每瓶 Solution I 中加入一小瓶 RNaseA。
在琼脂糖凝胶上点样时, 质粒漂出点样孔	洗脱步骤后, 乙醇没有完全从柱子上去除	按操作指南中的步骤 9 离心甩干小柱。

2XPCR Master Mix

金牌酶的品质 普及风暴

超纯水的价格

1ml/28元
5*1ml/110元

欢迎索取0.5ml的试用装

简单: 加入模板DNA即可, 无需繁杂操作。
稳定: 37°C保存72小时后, 扩增效率无明显改变。
高效: 体系中含有高效的PCR促进剂, 富含GC的模板同样能高效扩增。

扩增效果测试

与市面上常用的T公司产品比较

稳定性测试

1, 2为新鲜配制的2XPCR Master Mix; 3, 4为室温下放置1周的2XPCR Master Mix, 扩增同一DNA片段。

以上基因型DNA为模板, 扩增不同GC含量的DNA片段, PCR产物电泳图。
G为GBCBIO公司产品, T为市面上常用的T公司产品, 扩增同一片段效果对比。

进口原料, 稳定可靠

无需接触粉末, 安全环保

即开即用, 方便快捷



买三送一

买五送二

丙烯酰胺/甲叉丙烯酰胺溶液

G5550	30%丙烯酰胺/甲叉丙烯酰胺29:1	500ml	128元
G5551	30%丙烯酰胺/甲叉丙烯酰胺19:1	500ml	128元
G6550	40%丙烯酰胺/甲叉丙烯酰胺29:1	500ml	178元
G6551	40%丙烯酰胺/甲叉丙烯酰胺19:1	500ml	178元
G7550	40%丙烯酰胺/甲叉丙烯酰胺37.5:1	500ml	178元

BCA蛋白浓度测定试剂盒

- **灵敏** 检测浓度下限达到25μg/ml
- **线性范围大** 50-2000μg/ml浓度范围内有较好的线性关系
- **兼容性强** 不受绝大部分样品中的化学物质的影响
- **超值** 进口的品质, 国产的价格

500次/238元
5000次/1288元