

Monad

MonPure™ Plasmid Mini Kit

货号 RN01001S RN01001M

规格 50 Preps 200 Preps

产品组成

	RN01001S (50 Preps)	RN01001M (200 Preps)
Buffer P1	15 ml	60 ml
Buffer P2	15 ml	60 ml
Buffer N3	20 ml	80 ml
Buffer PB	10 ml	35 ml
Buffer PW (concentrate)	6 ml	25 ml
Buffer EB	10 ml	30 ml
RNase A (10 mg/ml)	150 µl	600 µl
Spin Columns & Collection Tubes	50/pk	4 × 50/pk
说明书 1 份	1 份	

保存条件：室温



☎ 400-820-2141

support@monadbiotech.com
www.monadbiotech.com

产品描述

莫纳质粒小提试剂盒是一种用于从大肠杆菌中进行高纯度小量质粒抽提试剂盒。本试剂盒的原理为：采用独特的硅基质膜吸附技术和试剂配方，在高盐、低 pH 条件下，质粒在离心过柱的瞬间，结合到质粒纯化柱上，在低盐、高 pH 条件下又能充分洗脱下来。每个吸附柱可结合的质粒量的上限约为 30 µg。该试剂盒能最大限度去除蛋白质、gDNA、RNA 和其它杂质，得到的高纯度质粒 DNA 可直接用于细菌转化、PCR、酶切、测序、连接等生物学实验。

自备试剂

无水乙醇

实验步骤

首次使用

1. 按照试剂瓶标签的说明，将 **RNase A** 溶液全部加入到 **Buffer P1** 中，混匀，做好标记（瓶顶签打√），置于 2~8°C 可保存 6 个月，使用前需在室温中放置一段时间，恢复至室温后使用。
2. 按照试剂瓶标签的说明，在 **Buffer PW** 中加入相应体积的无水乙醇，混匀，并做好标记（瓶顶签打√）。

非首次使用

1. 取 1.5 ml 过夜培养的菌液加入 1.5 ml 离心管（自备）中，13,000 rpm 离心 30 秒收集菌体沉淀，弃上清，再倒入约 1.5 ml 菌液并重复上述操作，将离心管倒置于吸水纸上，倒尽或吸干培养基。

注意：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。为保证后续裂解效果，高拷贝质粒一般所用菌量不超过 5 ml，低拷贝质粒不超过 10 ml。

2. 每管加入 250 µl Buffer P1，使用移液器或涡旋振荡器充分混匀，悬浮菌体沉淀。

注意：如果菌块未彻底混匀，将会影响裂解效果，导致提取量和纯度偏低。

3. 向离心管中加入 250 µl Buffer P2，轻轻颠倒混匀 4~6 次，使菌体充分裂解，此时溶液应变得清亮粘稠。

注意：混匀时动作应温和，避免剧烈震荡，以免基因组 DNA 断裂造成污染；此步骤所用时间应不超过 5 分钟，避免质粒受到破坏。

4. 向离心管中加入 350 µl Buffer N3，立即轻轻颠倒 8~10 次，充分混匀，此时应出现白色絮状沉淀，13,000 rpm 离心 5 分钟。

注意：Buffer N3 加入后应立即混匀，避免产生局部沉淀。

5. 将步骤 4 中所得的上清液转移到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns & Collection

Tubes）中，13,000 rpm 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

6. 向吸附柱中加入 150 µl Buffer PB，13,000 rpm 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液。

7. 向吸附柱中加入 400 µl Buffer PW，13,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液。

8. 空吸附柱 13,000 rpm 离心 1 分钟，彻底除去残留的 Buffer PW。

9. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附膜的中间部位加入 50~100 µl Buffer EB，室温放置 2 分钟，13,000 rpm 离心 1 分钟，离心管中收集的即为高纯度质粒，置于 -20°C 长期保存。

注意：① 为了增加质粒的回收效率，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置 2 分钟，13,000 rpm 离心 1 分钟，将质粒溶液收集到离心管中。

② 质粒拷贝数较低或 > 10 kb 时，Buffer EB 在 65~70°C 水浴预热，可以提高得率。

注意事项

1. 本试剂盒所有组分（除 RNase A）可在干燥、室温（15~30°C）环境稳定保存 1 年，将吸附柱置于 2~8°C 可保存更长时间，加入 RNase A 的 Buffer P1 置于 2~8°C 可稳定保存 6 个月。
2. 使用前若发现 Buffer P2，Buffer N3，Buffer PB 有沉淀，可在 37°C 水浴几分钟，即可恢复澄清（请勿剧烈晃动 Buffer P2）。
3. 请勿直接接触 Buffer P2，Buffer N3，Buffer PB，使用后应立即拧紧盖子。
4. 提取质粒的量和纯度与细菌培养浓度、菌株种类、质粒大小、质粒拷贝数等因素有关。
5. 为了保证您的安全与健康，实验时请穿好实验服并戴一次性手套。