

# 中文说明书

## QuaG™ Plasmid Miniprep Kit



AB-LAND® from JC Group

货号：PPK25050

### 一、产品描述

QuaG™ Plasmid Miniprep Kit, 包括了一整套完整的试剂套装, 可以进行 50 次 *E. coli* 质粒抽提实验。其主要特点是:

- ✓ **高效**, 可以提取多至 2 mg 左右的质粒
- ✓ **便捷**, 不仅能提取 plasmid, 还能抽提 cosmid, BAC 等, 无基因组 DNA 污染, 无需苯酚/氯仿抽提, 无有毒试剂
- ✓ **快速**, 30 分钟完成抽提

#### 试剂盒组成:

- |                        |                                |
|------------------------|--------------------------------|
| 1、 ALB-V1™, 15 ml      | 6、 ElutionBuffer, 5 ml         |
| 2、 ALB-V2™, 15 ml      | 7、 RNase A, 30 μl              |
| 3、 ALB-V3™, 21 ml      | 8、 Spin Column with tube, 50 个 |
| 4、 WashBuffer-1, 30 ml | 9、 Collection Tube, 50 个       |
| 5、 WashBuffer-2, 25 ml | 10、 说明书, 1 份                   |

# 中文说明书

## QuaG™ Plasmid Miniprep Kit



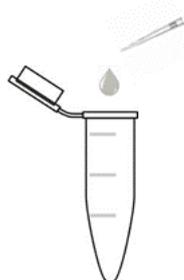
AB-LAND® from JC Group

### 1、 介绍

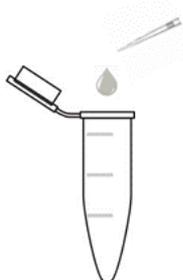
Ab-Land 是卓尔医疗的子品牌，其生产的 QuaG™ Plasmid Miniprep Kit，提供了一个简单快速的研究质粒的方法，它弥补了传统的碱裂解法提取质粒的缺陷，如时间较长，试剂较多并且有些有毒性。目前提取质粒大多采用层析膜或者层析胶的方法。

此试剂盒在高盐低 pH 的环境下，质粒 DNA 能与过滤膜结合，通过洗涤可以去除蛋白质等非结合物质，而在低盐高 pH 环境下，质粒 DNA 能从膜上被洗脱分离出来，从而达到纯化质粒 DNA 的目的，原理简单，操作便捷，仅需几次短暂的离心即可。试剂盒的洗脱液中含有 EDTA，如果长期保存质粒可以用试剂盒的洗脱液洗脱，如果直接使用或者进行酶切则需使用 ddH<sub>2</sub>O 洗脱。

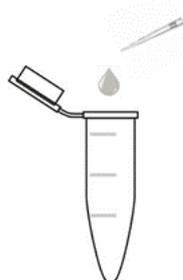
### 2、 操作流程概览



1. 使用ABL-V1悬浮细菌



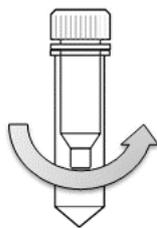
2. 使用ABL-V2裂解细菌



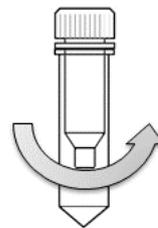
3. 使用ABL-V3中和细菌裂解液



4. 离心获得上清



5. 上清转移到spin column中使用 WashBuffer-1和WashBuffer-2 进行离心洗涤



6. 用Elution Buffer 或者ddH<sub>2</sub>O进行洗脱收集

# 中文说明书

## QuaG™ Plasmid Miniprep Kit



AB-LAND® from JC Group

### 3、 使用前试剂准备

- ✓ **ABL-V1:** 第一次使用前请向 ABL-V1 中加入全部的 **RNase A**。  
注: 先将 RNase A 使用 **8000 rpm, 10s** 离心, 将壁上的残液都集中到试管底部。
- ✓ **WashBuffer-2:** 使用前请向 WashBuffer-2 中加入 **55 ml** 的 **95%乙醇(或无水乙醇)**, 室温保存。
- ✓ **核对 ABL-V2,** 由于此试剂中含有 SDS, 低温会凝固, 可以放置在 **37°C烘箱或者水浴**直到溶液澄清。
- ✓ **检查所有试剂情况, 如有沉淀产生, 则 37°C温育直至溶解后使用。**

### 4、 大肠杆菌质粒扩增培养方法

**注:** 由于低拷贝质粒和高拷贝质粒的扩增效率不一样, 因此以下我们以常用的 pET 质粒系统为例。

- ① 按照“表 1”配置 **LB** 培养基, 并分装到可以装入 **4 ml** 培养基的试管中, 然后进行灭菌。
- ② 加入 **40 ul** 甘油保存的已经转入 pET 质粒(**Amp 抗性**)的大肠杆菌, 并加入 **4 ul** 的 Amp。
- ③ 进行摇床培养, **220 rpm, 37°C, 8 h**。

表 1: LB 培养基配方

试剂名称	加入的质量
胰蛋白胨:	1 g
酵母提取物:	0.5 g
氯化钠:	1 g
配置: 将以上材料溶解到 <b>100 ml</b> 的 ddH <sub>2</sub> O 中, <b>121°C, 20min</b> , 高压湿热灭菌	

# 中文说明书

## QuaG™ Plasmid Miniprep Kit



AB-LAND® from JC Group

### 5、 通过本试剂盒纯化质粒 DNA 的详细步骤

**注：**请再次确认 WashBuffer-2 是否已经加入指定体积的 95%乙醇或无水乙醇。

#### 5.1 菌液的裂解和质粒初步提纯

- ① 取上述扩增培养的大肠杆菌一管(4 ml 的菌液，如果多取几管也无妨)。分装到 4 个 EP 管中，进行高速离心沉淀菌体，12000 g，1min，丢弃上清。  
**注：**考虑到很多大肠杆菌的培养管无法进行 12000g 的离心，因此用分装到 EP 管的方法来实现离心，如果可以直​​接离心那是最佳选择。
- ② 将上述 4 个 EP 管中的细菌用 250μl 的 ABL-V1 溶液集中到一个 EP 管中，混匀。  
**注：**用来悬浮 4 个 EP 管的细菌所用的 ABL-V1 溶液一共是 250μl，并不是每个 EP 管 250μl
- ③ 再加入 250μl 的 ABL-V2 溶液，充分混合使得菌体彻底裂解，此步骤不超过 5min。  
**注：**切忌剧烈震荡，以免污染基因组 DNA。
- ④ 再加入 350μl 的 ABL-V3 溶液，温和并充分混匀进行中和，上下颠倒 10 次后高速离心，12000 g，10min。

#### 5.2 离心法进一步纯化质粒 DNA

- ① 将上一步中离心的上清液转移到 Spin Column with tube 中(试剂盒中配有)，进行高速离心，12000 g，1min，丢弃 tube 中的流出液，再将 Spin Column 放回该 tube 中。
- ② 加入 500μl WashBuffer-1 溶液高速离心，12000 g，1min，丢弃流出液，再将 Spin Column 放回该 tube 中。
- ③ 加入 700μl WashBuffer -2 溶液高速离心，12000 g，1min，丢弃流出液，再将 Spin Column 放回该 tube 中。
- ④ 重复上一步。
- ⑤ 不加任何试剂，直接高速离心去除多余的乙醇，12000 g，1min，丢弃 Waste Tube。
- ⑥ 将 Spin Column 放入到一个 Collection Tube 中进行洗脱。向 Spin Column 中加入 80ul 的 Elution Buffer(或者 ddH<sub>2</sub>O)，室温静置 2min，然后高速离心，12000 g，2min。收集的 80ul 溶液即为最终纯化的质粒 DNA。  
**注：**可以先预热洗脱液至 65℃，再加入后离心洗脱，得率更高。

#### 5.3 测定质粒的浓度

- ① 以洗脱液为空白对照液。
- ② 取 2μl 纯化的质粒 DNA，通过微量核酸测定仪来检测纯化的质粒的浓度。  
**注：**可以选择我司的高性价比微量核酸测定仪，货号：ABK5500

# 中文说明书

## QuaG™ Plasmid Miniprep Kit

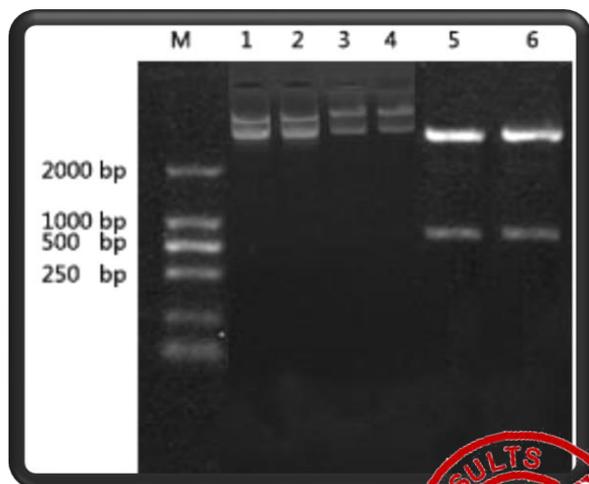


AB-LAND® from JC Group

### 6、 问题分析

可能发生的问题	可能的原因	解决方案
无质粒被纯化到，或者纯化量极少	质粒丢失	重新划线，挑斑培养
	裂解液 ABL-V2 的瓶盖未拧紧，长期与空气中的二氧化碳接触后失效。	裂解液 ABL-V2 使用完后要把瓶盖未拧紧
	质粒在洗涤过程中流失	确保 WashBuffer-2 中已经加入乙醇
质粒 DNA 纯度低 (高纯度的质粒体现为： 1.7<A260/A280<1.9，低于 1.7 考虑为蛋白质污染，高于 1.9 考虑为 RNA 污染)	A260/A280<1.7	1. 菌液过高导致蛋白去除不充分 2. ABL-V2 裂解液裂解不充分 3. ABL-V3 中和液中和不完全
	A260/A280>1.9	1. ABL-V1 中未加入 RNase A 酶 2. ABL-V2 裂解液裂解不充分 3. ABL-V3 中和液中和不完全

### 7、 案例：两种质粒的提纯及双酶切鉴定



**Fig1. Gel electrophoresis of two plasmids digested by enzyme and purified by QuaG™ Plasmid Miniprep Kit .**

Plasmid PGEX-4T-1-gene (Lane 1 and Lane 2).

Plasmid PET32a-gene (Lane 3 and Lane 4).

Plasmid PGEX-4T-1-gene digested by restriction enzyme(Lane 5),the lower band is gene.

Plasmid PET32a-gene digested by restriction enzyme(Lane 6), the lower band is gene.

DNA ladder 2000(Land M)



# 中文说明书

## QuaG™ Plasmid Miniprep Kit



AB-LAND® from JC Group

### 8、相关产品

产品货号	产品名称	产品规格
ABK5500	微量核酸蛋白测定仪	上样量为 1.5µl, 包括电脑和软件
PPK25050	QuaG™ Plasmid Miniprep Kit	可以抽提 50 次
PPK25100	QuaG™ Plasmid Miniprep Kit	可以抽提 100 次
DCU13050	QuaG™ DNA Clean Up Kit	可以清洁 50 次
DCU13100	QuaG™ DNA Clean Up Kit	可以清洁 100 次
DGE13050	QuaG™ DNA Gel Extraction Kit	可以回收 50 次
DGE13100	QuaG™ DNA Gel Extraction Kit	可以回收 100 次
CS28002	Spin column	50 个, 900ul 容量, 提取质粒专用
CS33001	Waste tube	50 个, 2ml, 无盖
RT33001	WashBuffer-1	50ml, 洗涤液 1
RT33002	WashBuffer-2	50ml, 洗涤液 2
RT10002	ABL-V1™	50ml, 重悬液
RT10003	ABL-V2™	50ml, 裂解液
RT10004	ABL-V3™	50ml, 中和液
EF21001	Easy Fection™ Lipo-transfection Reagent	0.1 ml, 脂质体转染试剂
EF21010	Easy Fection™ Lipo-transfection Reagent	1 ml, 脂质体转染试剂
EF21015	Easy Fection™ Lipo-transfection Reagent	1.5 ml, 脂质体转染试剂
EF21020	Easy Fection™ Lipo-transfection Reagent	2 ml, 脂质体转染试剂
EF21050	Easy Fection™ Lipo-transfection Reagent	5 ml, 脂质体转染试剂
EF21500	Easy Fection™ Lipo-transfection Reagent	50 ml, 脂质体转染试剂

更多产品, 参看 [www.juchengmeidcal.com](http://www.juchengmeidcal.com) 查询, 或者直接咨询热线电话: **400-884-8280**

## AB-LAND SCIENTIFIC

中国生产基地•武汉

地址: 湖北省武汉市汉阳区加华科技产业园 1 号楼

电话: 027-59306625

服务热线: 400-8848-280

