

## 原 理：

本套組是以 alkaline lysis 的方法進行，其原理是將細菌以 NaOH 及 SDS 分解，並使蛋白質及 DNA 變性之後再以酸中和。如此，較小分子的質體 DNA 在中和後可恢復原態(其中約有 5% 的質體 DNA 會有 nick 的情形)，但大部份的細菌染色體 DNA 則無法完全復原，而與 SDS - K<sup>+</sup> 所形成的複合物一起沉澱下來，利用離心便可去除之。上清液所含的質體 DNA 便可以利用離子交換方式，進行純化並濃縮(回收率約 80%)。

## 產品介紹：

本套組乃根據上述原理所配製，其中最大的特點便是質體 DNA 的產量很高，只要上清液中有質體 DNA 的話：本套組便可將其回收。所純化出的質體 DNA 是可以直接用於 DNA 定序，限制酶反應等後續實驗。

## 本套組包含：

Plasprep suspension : 15ml

Buffer C1 : 45ml

Buffer C2 : 45ml

Buffer C3 : 45ml

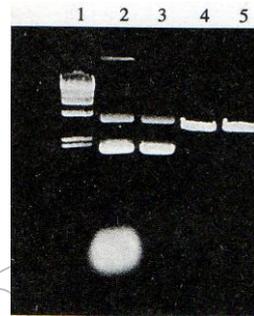
Washing Buffer : 60ml(使用前請先加入 240ml 的 Ethanol)。

RNaseA:1 Vial (初次使用時請與 Buffer C1 混勻後,置於 4°C 保存)。

## 保 存：本套組可保存於室溫

## 方法步驟：

- 1.取 3~5ml 菌液，加入微量離心管中，以 10000~12000rpm 離心 5 秒，倒掉上清液，儘可能不要殘留太多液體，以免影響 Binding 情況。
- 2.加入 Buffer C1 (150ul)，劇烈振盪，將沉澱物完全打散。
- 3.加入 Buffer C2 (150ul)，蓋上管蓋後將管子反覆上下搖動，請勿劇烈振盪，直到溶液轉為澄清而且黏度增加。(如果溶液中菌量太多的話，容易造成 RNA 殘留)。靜置時間 5min.
- 4.加入預冷過的 Buffer C3 (150ul)，蓋上管蓋後反覆上下搖動混勻，同樣地不可劇烈振盪。
- 5.以 14000rpm 離心 5 分鐘後，小心吸出上清液到另一離心管。
- 6.將 plasprep suspension 搖晃均勻後,取 50ul 的 suspension 加入離心管中,混合均勻,進行 DNA 吸附,時間約 3~5min。
- 7.以 12000rpm 離心 3 秒後，將上清液倒掉。(請注意離心時間不要太久，上清液儘可能去除乾淨)。
- 8.加入 1.0ml 的 Washing Buffer 於離心管中，將沉澱物完全打散即可。
- 9.以 12000rpm 離心 3 秒後，將上清液倒掉。(請務必去除乾淨,那麼等待酒精乾燥的時間便越短，置於乾浴器中，在 55°C 的條件下時間約 2 分鐘呈半乾狀態即可。)
- 10.加入 50ul 的 TE Buffer 於離心管中，用 tip 將沉澱物完全打散並置於乾浴器中，在 55°C 的條件下靜置 2 分鐘溶出 DNA。(DNA 的溶出的效率會隨著時間，溫度及體積而改變，一般而言大概在 80%)。
- 11.以 12000rpm 離心 1min 後，便可將上清液吸出。



1.λ /HindIII Marker  
2.Crude alcohol precipitation  
3.Purified with Plasprep  
產品編號:KD01-C  
4.HindIII digested  
5.KpnI digested  
★Recovery about 80%

## 註解：

- 1、Buffer C3 預冷後，可減少 genomic DNA 的污染。
- 2、一般而言質體 DNA 都會與 genomic DNA 纏繞一起，而被去除掉一部份，尤其是大分子質體 DNA 更是嚴重，因此產量會特別少。
- 3、DNA 分子雖然穩定，但仍會受到污染而分解，因此建議最好還是保存於 TE Buffer 中，確保 DNA 品質。**(內毒素含量 <10 Eu/ugDNA)**
- 4、本產品可以比例放大使用。

## 較大量菌液的純化：

### 一.

- 1、取 20ml 菌液，加入離心管中，以 8000rpm 離心 5 分鐘，倒掉上清液，儘可能不要殘留太多液體，以免影響 Binding 情況。
- 2、加入 Buffer C1 (500ul)，劇烈振盪，將沉澱物完全打散。置入小離心管中。
- 3、加入 Buffer C2 (500ul)，蓋上管蓋後將管子反覆上下搖動，請勿劇烈振盪，直到溶液轉為澄清而且黏度增加。(如果溶液中菌量太多的話，容易造成 RNA 殘留)。**靜置時間 5min.**
- 4、加入預冷過的 Buffer C3 (500ul)，蓋上管蓋後反覆上下搖動，同樣地不可劇烈振盪。
- 5、以 14000rpm 離心 10 分鐘後，小心吸出上清液到另一支離心管。
- 6、將 plasmid suspension 搖晃均勻後，取 150ul 的 suspension 加入離心管中，混合均勻，進行 DNA 吸附，時間約 5min。
- 7、以 12000rpm 離心 3 秒後，將上清液倒掉。**(請注意離心時間不要太久，上清液儘可能去除乾淨)。**
- 8、加入 1.0ml 的 Washing Buffer 於離心管中，將沉澱物完全打散即可。
- 9、以 12000 離心 3 秒後，將上清液儘量去除乾淨。**(請務必去除乾淨，那麼等待酒精乾燥的時間便越短，置於乾浴器中，在 55°C 條件下時間約 5 分鐘呈半乾狀態即可。)**
- 10、加入 100~200ul 的 TE Buffer 於離心管中，用 tip 將沉澱物完全打散並置於乾浴器中在 55°C 的條件下靜置 2 分鐘溶出 DNA。**(DNA 的溶出的效率會隨著時間，溫度及體積而改變，一般而言大概在 80%)。**
- 11、以 12000rpm 離心 1min 後，便可將上清液吸出。

### 二.

- 1、取 100ml 菌液，加入離心管中，以 8000rpm 離心 10 分鐘，倒掉上清液，儘可能不要殘留太多液體，以免影響 Binding 情況。
- 2、加入 Buffer C1 (2ml)，劇烈振盪，將沉澱物完全打散並取 0.5ml 菌液分裝於 1.5ml 離心管中可再依 20ml 菌液的步驟操作。

☞ **本產品僅限於研究用途，非臨床使用。** ☞