

PlasPrep Kit 質體 DNA 純化套組

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⁺ 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 便可以用酒精將其沉澱下來。

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。

本套組包裝：300 reactions

本套組包含：

Buffer C1：30ml

Buffer C2：30ml

Buffer C3：45ml

Buffer C4：6ml

Buffer C5：6ml

Buffer C6：54ml (使用前請加入 130ml 的酒精(95%以上))

保 存：本套組可保存於室溫

方法步驟：

1. 取 1.5~3.0ml 菌液，加入微量離心管中，以 10000~12000rpm 離心 30 秒，倒掉上清液，儘可能不要殘留太多液體。
2. 加入 Buffer C1 (100ul)，劇烈振盪，將沉澱物完全打散。
3. 加入 Buffer C2 (100ul)，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，就不會太澄清了)。
4. 加入預冷過的 Buffer C3 (150ul)，蓋上管蓋後混合均勻，同樣地不可劇烈振盪。
 5. 以 12000rpm 離心 5 分鐘後，小心吸出上清液到另一離心管。
 6. 加入 Buffer C4 (20ul) 於離心管中，混合均勻,之後再加入 2.5 倍的酒精(95%以上)。
 7. 以 12000rpm 離心 5 分鐘後，將上清液儘量去除，留下沉澱物(因為質體 DNA 已在其中，千萬不能掉了)。
 8. 加入 Buffer C5 (20ul)於離心管中，將半溼狀態的沉澱物溶解後，置於 37°C 中 5 分鐘。
 9. 加入 Buffer C6 (600ul)於離心管中，混合均勻，以 12000rpm 離心 5 分鐘後，將上清液去除乾淨，留下沉澱物。【請勿過度乾燥,否則很難溶解】
 10. 以 50ul 的 TE Buffer 溶解。(建議儘量用 TE Buffer 來保存 DNA)。

註 解：

- Buffer C3 預冷後，可減少 genomic DNA 的污染。
- 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。
- 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。
- 本套組所純化的質體 DNA，其品質及產量遠比 spin-column 來的好，全部過程都是以溶液進行之，以確保質體 DNA 的完整性。(因為 spin-column 的方式會對 DNA 造成斷裂的風險)。

訂購資訊：

產品名稱	包裝	貨號
PlasPrep Kit	1 kit	DNA-KD01