

无内毒素质粒小提试剂盒

产品货号：400-201

产品简介

本产品采用经典的碱裂解法，通过柱式法的硅胶膜技术与改良的除内毒素液，可用于从 1~5 mL 过夜培养的菌液中提取高质量的质粒，有效去除质粒中残留的内毒素。操作简便快捷，35 min 内可完成质粒提取。

提取的质粒 DNA 中残留的内毒素含量极低（ $< 0.1 \text{ EU}/\mu\text{g}$ ），可直接用于细胞转染、动物注射、酶切、PCR、测序等实验。

产品组成

组分	装量/50 T	货号
溶液 P1	13 mL	400-201A
溶液 P2	13 mL	400-201B
溶液 P3	13 mL	400-201C
除内毒素液	38 mL	400-201D
除蛋白液	28 mL	400-201E
RNase A	260 μL	400-201F
溶液 L	260 μL	400-201G
ddH ₂ O	10 mL	400-201H
吸附柱	50 套	400-201I
收集管	50 套	400-201J

储存条件

本产品的溶液 L 置于 2~8℃ 储存，其他组分室温储存。若 RNase A 已全部加入溶液 P1 中且混匀，需将溶液 P1 储存于 2~8℃，有效期 6 个月。

实验前准备

1、首次使用前，将 RNase A 全部加入至溶液 P1 中，混匀后做上标记。

2、准备 1.5/2 mL 离心管、80%乙醇等。

使用方法

1、按需取 1~5 mL 过夜培养的菌液于 2 mL 离心管中，14000×g 离心 1 min 收集菌体（菌液较多时可通过多次离心将菌体沉淀收集于同一离心管），吸弃液体，液体要弃尽。

2、依次加入 250 μL 溶液 P1（**已含 RNase A**）和 5 μL 溶液 L，涡旋菌体直至完全重悬。

注意：如果菌体未能全部重悬散开，会影响下一步的碱裂解，进而影响质粒的提取产量，请充分重悬菌体。溶液 L 可以提升质粒的提取产量，请先在离心管里加入溶液 P1，再将 5 μL 溶液 L 打到溶液 P1 内，以免损耗。

3、加入 250 μL 溶液 P2，温和地上下颠倒 8 次，室温静置 3 min（不应超过 5 min）。

注意：此步切勿剧烈震荡，应温和地混合，避免残留基因组 DNA。裂解时间不应超过 5 min，避免质粒受到破坏，此时的菌液应变为清亮黏稠，若菌液仍未清亮，可能是菌体过多，裂解不彻底，应减少菌体量。

4、加入 250 μL 溶液 P3，立即上下颠倒 15 次，此时应出现白色絮状沉淀，14000×g 离心 10 min。

注意：溶液 P3 加入后应立即混匀，避免产生局部沉淀。

5、将上清液转移至新的 2 mL 离心管中，加入等体积的除内毒素液，上下颠倒 15 次以至混匀。

6、将步骤 5 的混合液转移至吸附柱（已放入收集管）中，14000×g 离心 30 sec，弃滤液。

注意：吸附柱的最大承载容积是 750 μL，若混合液超过该体积，需分多次上柱。

7、重复步骤 6，直至混合液全部上柱。

8、加入 500 μL 除蛋白液至吸附柱中，室温静置 30 sec，14000×g 离心 30 sec，弃滤液。

9、加入 700 μL 80%乙醇至吸附柱中，室温静置 30 sec，14000×g 离心 30 sec，弃滤液。

10、将吸附柱放回收集管中，空管 14000×g 离心 1 min，确保去除所有液体。

11、将吸附柱放入一个新的 1.5 mL 离心管中，加入 30 μL~100 μL ddH₂O 至吸附柱的膜中央，室温静置 1 min，14000×g 离心 1 min，弃吸附柱。

12、提取的质粒 DNA 于 -20℃ 保存。

注意事项

1、溶液 P2 在低温时会有沉淀析出，若有沉淀析出，将其置于 37℃ 中复溶至溶液澄清后方可使用。

2、各组分使用后应及时盖紧盖子，避免长时间暴露于空气中导致醇挥发、pH 值变化等。