

无内毒素质粒大提试剂盒

产品货号：400-204

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 100~300 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，纯度高。操作简便快捷，可快速提取 0.2~1.5 mg 质粒 DNA。

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/10 T	货号
溶液 P1	82 mL	400-204A
溶液 P2	82 mL	400-204B
溶液 P3	82 mL	400-204C
除内毒素液	240 mL	400-204D
除蛋白液	105 mL	400-204E
RNase A	1.64 mL	400-204F
溶液 L	1.64 mL	400-204G
ddH ₂ O	25 mL	400-204H
吸附柱	10 个	400-204I
收集管	20 个	400-204J

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。常温运输。

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 2/50 mL 离心管、80%乙醇等。

使用方法

1、按需取 100~300 mL 过夜培养的菌液于 50 mL 离心管中，12000×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 8 mL 溶液 P1（已含 RNase A）和 160 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。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 160 μL 溶液 L 打到溶液 P1 内，以免损耗。

3、加入 8 mL 溶液 P2，温和地上下颠倒 8 次，室温静置 4 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 8 mL 溶液 P3，立即上下颠倒 15 次，此时应出现白色絮状沉淀，12000×g 离心 15 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 50 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，12000×g 离心 1 min，弃滤液。

注意：吸附柱的最大承载容积是 14.5 mL，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 10 mL 除蛋白液至吸附柱中，室温静置 1 min，12000×g 离心 1 min，弃滤液。

9、加入 12 mL 80%乙醇至吸附柱中，室温静置 1 min，12000×g 离心 1 min，弃滤液。

10、将吸附柱放回收集管中，12000×g 离心 2 min。

11、将吸附柱放入新的收集管中，加入 1~2 mL ddH₂O 至吸附柱的膜中央，室温静置 1 min，12000×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。