

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 EU/μg），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	120 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。

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。



扫码查看操作视频

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0.5倍上清液体积的除内毒素液，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2 min，12000×g离心2 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。