www.bioss.com.cn
sales@bioss.com.cn
techsupport@bioss.com.cn
400-901-9800

去内毒素质粒大量提取试剂盒
Plasmid Extraction Mini Kit (Endotoxin Free)

产品编号： C6202

保存条件： 室温干燥可保存一年，4℃保存可更长时间。

产品介绍： **产品简介**

本试剂盒适用于无内毒素高纯度质粒 DNA 的大量制备与纯化，柱上去除内毒素，操作简单。菌体经改良的碱裂解处理，质粒可从菌体中释放出来，并特异、高效地被离心柱硅胶膜吸附。通过去蛋白液和漂洗液的清洗可去除蛋白及其他杂质，最后得到高纯度的无内毒素质粒 DNA，所得质粒可直接用于酶切、转化、PCR、测序、细胞转染等分子生物学实验。

产品优势

1. 操作简易、快捷、高效（颜色易判断、得率高）、省时。
2. 纯度高：沉淀致密，去杂干净。
3. 内毒素去除简单：柱上去除内毒素，方便快速，清除干净。

注意事项

1. 细菌培养时间一般为14小时左右，如接种量大则应减少培养时间，过度培养会降低质粒质量甚至导致质粒 DNA 突变。
2. 使用前应将全部RNase A溶液加到Solution I中混合均匀，2-8℃可稳定保存6个月；每次使用时都要注意 Solution II 和 III 是否形成沉淀，如有沉淀 37℃溶解后再用；
3. 加入 Solution II 裂解细菌，直至溶液成紫红色粘稠透明状，时间过长会导致质粒 DNA 变性；
4. 质粒的产量跟细菌量、质粒拷贝数、质粒大小和操作规范程度密切相关。

操作步骤

1. 柱平衡：向吸附柱中（吸附柱放入收集管中）加入 2.5 ml 的平衡液 BL，10,000 rpm 离心 2 min，弃收集管中滤液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）
2. 取 100-200 ml（如果是低拷贝质粒可以收集更多菌液）过夜培养的菌液，室温 10,000 rpm 离心 2 min，弃上清。
3. 加入 10 ml Solution I，旋涡震荡或用移液器充分吹打使菌体重悬均匀，呈现出均匀混浊的棕红色。注意：菌体沉淀一定要悬浮均匀，如有未彻底悬浮的菌块会影响裂解，导致提取的质粒浓度及纯度降低。
4. 加入 10 ml Solution II，温和颠倒混匀使菌体完全裂解，直到溶液变成清亮、粘稠

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.

的紫红色。注意：不可剧烈震荡，以免造成基因组 DNA 片段的污染，所用时间不要超过 5 min，以免质粒受到破坏，如未完全变得清亮，可能是菌体太多，可增加 Solution II 的用量，在后续的操作中 Solution III 的用量也要相应增加。

5. 加入 10 ml Solution III，立即温和颠倒混匀，可见红黄相间的絮状物产生，继续混匀直到完全变为黄色，室温静置 2 min，然后 10,000 rpm 离心 10 min，将上清转移至干净离心管（自备）中，注意不要带入沉淀。注意：SolutionIII加入后应立即混合，避免产生局部沉淀，如果上清中还有紫色漂浮物，说明复性不充分，继续混匀至溶液颜色完全变为澄清的黄色。

6. 加入 0.3 倍滤液体积的异丙醇，上下颠倒混匀。注意：加入异丙醇过多容易导致 RNA 污染。

7. 将步骤 5 中液体与异丙醇的混合溶液转移到平衡好的吸附柱中（使用当天用平衡液处理的吸附柱，放入 50 ml 收集管中），静置 2min，让质粒 DNA 与吸附柱中的硅胶膜充分结合。10,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中的滤液。注意：吸附柱的最大容积为 15 ml，所以上步中所得溶液分多次过柱。如果离心机转子倾角较大时，建议加入吸附柱的溶液体积不超过 10 ml，以防发生漏液现象。

8. 向吸附柱中加入 5 ml ToxinOut Buffer，室温静置 10 min，10,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中滤液。

9. 加入 10 ml Buffer WB2，室温 10,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中滤液。注意：Buffer WB2 为浓缩液，按要求加入无水乙醇，用后应立即盖紧瓶盖，以防酒精挥发。

10. 加入 5 ml Buffer WB2，室温 10,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中滤液。

11. 室温 10,000 rpm 离心 5 min，甩干残留液体。

12. 将离心吸附柱置于一个新的 50 ml 塑料离心管中，打开管盖，放置 5 min，使乙醇彻底挥发干净。

13. 加入 1-2 ml 洗脱液 Buffer EB，室温放置 2 min，10,000 rpm 离心 2 min，离心管底溶液即质粒 DNA。注意：为增加洗脱效率，可将得到的质粒溶液重新加入到吸附柱中重复步骤 11 一次，如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH值在 7.0 – 8.5 之间。

低拷贝或大质粒（>10 kb）提取

如果所提质粒为低拷贝质粒，或大于 10 kb 的大质粒，或提取农杆菌质粒，或提取革兰氏阳性菌质粒，应加大菌体使用量，使用 300-500 ml 过夜培养物，最后洗脱液 Buffer EB 60°C水浴预热，吸附和洗脱时可以适当延长时间，以增加提取效率。其它步骤相同。

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.