

无内毒素质粒 DNA 大量提取试剂盒

LPS-Free Maxi Plasmid DNA Extraction Kit

(适用于从革兰氏阴性菌中大量提取无内毒素的质粒 DNA)

产品包装

15-25°C 储存至少 12 个月

产品编号	产品名称	包装规格
YFXM0042	无内毒素质粒 DNA 大量提取试剂盒	10T

试剂盒成分

名称	50T
Yfxbio® Mini Column (吸附柱)	10 个
Yfxbio® Colliciton Tube (2mL 收集管)	10 个
Buffer I (Cell Resuspension Solution)	2×50mL
Buffer II (Cell Lysis Solution)	2×50mL
Buffer III (Neutralization Solution)	2×50mL
Yfxbio® DS (Deposition Solution)	2×50mL
Buffer YG	2×50mL
Yfxbio® WB (Wash Buffer)	50mL
Buffer YT	使用前加入 25mL 异丙醇
Buffer YN	1mL
Yfxbio® ES (Elution Solution)	2×15mL
RNase A	2×350μL

注意事项

- 1、详细阅读本说明书各步骤, 准备好自备其他试剂、耗材、以及试剂盒组分, 严格按照本说明书进行提取操作。
- 2、使用前将全部的 RNase A 加入到 Buffer I 中, 并上下颠倒充分混匀, 加入 RNase A 后的 Buffer I 保存在 2-8°C。
- 3、Buffer II 在低温时可能产生沉淀, 可在 37°C 温育至溶液澄清后正常使用。由于 Buffer II 中含有碱性成分, 为减少被空气中的 CO₂ 中和, 请使用后立即拧紧瓶盖。
- 4、Buffer III 使用前需要预冷至 4°C。
- 5、提取过程中, 加入 Buffer II 和 Buffer III 后的颠倒混匀要轻柔, 否则会影响质粒的质量。
- 6、Buffer YT 使用前, 按照标签说明加入 25mL 异丙醇 (自备)。

产品介绍

翼飞雪无内毒素质粒 DNA 大量提取试剂盒采用独特的疏水膜技术, 有效去除菌体中的各种蛋白质和大部分 RNA, 快速提取高纯度的质粒 DNA。

使用本试剂盒每次可处理 50mL 菌液, 获得多 1-2 mg 转染级质粒 DNA, 提取的质粒 DNA 内毒素含量极低, 可以用于一般的细胞转染实验, 以及 酶切、RT-PCR、荧光定量 PCR 等后续分子生物学实验。

提取步骤

样品裂解

1、取 50mL 过夜培养的菌液, 加入一洁净的离心管中, 6000rpm 室温离心 5min, 尽最大限度弃上清。

注: 为最大限度去除上清, 可将离心管倒扣于吸水纸上, 吸干残余的上清液。

2、向沉淀中加入 7mL Buffer I, 剧烈震荡, 将菌体完全打散。

注: 如菌体不能完全散开(有可见团块), 将会降低质粒 DNA 的产量。

3、向管中加入 7mL Buffer II, 轻轻上下颠倒混匀 5-10 次, 使细菌完全裂解, 此时溶液呈清亮透明、粘稠状, 无团块或絮状物。室温静置 2-5min。

注: 1) 上下颠倒混匀的动作要轻柔, 且裂解时间不宜超过 5min, 否则会导致基因组 DNA 断裂, 污染质粒 DNA。

2) Buffer II 使用结束后, 要立即拧紧瓶盖, 避免与空气长时间接触。

4、向管中加入 10mL 预冷至 4°C 的 Buffer III, 温和的上下颠倒混匀 10-20 次, 直至形成白色絮状沉淀。

5、4°C 8000rpm 离心 5min。

注: 提高离心力和离心时间有利于沉淀贴壁更加紧密, 但是并不宜离心时间过长, 否则会导致温度升高, 降解质粒 DNA。

6、将上清液转移至一个新的离心管中, 避免吸取沉淀和漂浮物。

7、向上清液中加入 10mL Yfxbio® DS 充分混合, 4°C 静置 20min, 8000rpm 离心 10min。

8、吸取上清液转移至新的洁净离心管中, 加入 10mL Buffer YG, 充分混合, 分两次转移至吸附柱内(提前套入收集管中), 每次室温 8000rpm 离心 1min, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱套入收集管内。

9、向吸附柱中加入 5mL Yfxbio® WB, 室温 8000rpm 离心 1min, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱重新套入收集管中。

10、向吸附柱中加入 5mL Buffer YT, 室温 8000rpm 离心 1min, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱重新套入收集管中。

11、室温 8000rpm 离心 5min, 去除残留液体。取出吸附柱在无菌风下吹 3-5min, 使痕量异丙醇完全挥发。若吸附膜上可明显看到有液体存在, 离心后可直接入 1mL Yfxbio® ES (或纯水) 至膜的中央, 8000rpm 离心 2min, 除去多余的异丙醇。

注: 倒弃收集管的液体再进行吹干, 才能彻底去除异丙醇, 微量的异丙醇残留并不会影响质粒的后续实验。

12、把吸附柱套入一新的 50mL 收集管, 加入 1mL Yfxbio® ES 至柱膜中央, 室温静置 5-10min, 8000rpm 离心 2min, 洗脱 DNA。

注: 1) 洗脱液提前预热至 65°C, 对于增加质粒 DNA 的产量会有帮助。

2) Yfxbio® ES 务必要加入到柱膜中间部位, 且确保全部覆盖柱膜。

13、(可选)质粒浓缩: 将质粒 DNA 转移至 1.5mL 离心管中, 按照 1mL 质粒加入 50μL Buffer YN 的比例, 混匀后再加入等体积的预冷的异丙醇, 4°C 12000rpm 以上离心 10min。弃去上清, 用 75%乙醇洗涤沉淀 3 次, 无菌风吹干沉淀, 视沉淀量和所需质粒浓度加入 Yfxbio® ES 溶解。

注: 1) 建议加入 50-200μL Yfxbio® ES 溶解沉淀。

2) 异丙醇-20°C 沉淀更有利于质粒的析出。

14、质粒 DNA 可短期储存于 4°C, 长期需储存于 -20°C