

无内毒素质粒 DNA 小量提取试剂盒

LPS-Free Mini Plasmid DNA Extraction Kit

(适用于从革兰氏阴性菌中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
YFXM0041	无内毒素质粒 DNA 小量提取试剂盒	50T

试剂盒成分

名称	50T
Yfxbio® Mini Column (吸附柱)	50 个
Yfxbio® Colleciton Tube (2mL 收集管)	50 个
Buffer I (Cell Resuspension Solution)	15mL
Buffer II (Cell Lysis Solution)	15mL
Buffer III (Neutralization Solution)	20mL
Yfxbio® DS (Deposition Solution)	50mL
Buffer YG	30mL
Yfxbio® WS (Wash Solution)	使用前加入 50mL 无水乙醇
Yfxbio® WB (Wash Buffer)	50mL
Yfxbio® ES (Elution Solution)	15mL
RNase A	350µL

注意事项

- 1、详细阅读本说明书各步骤, 准备好试剂盒组分、1.5mL 和 2mL 灭菌离心管、37°C 和 65°C 的温浴条件, 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、Yfxbio® WS 使用前, 按照标签说明加入无水乙醇, 每次用过之后, 需要立即拧紧盖子, 常温保存。

产品介绍

翼飞雪无内毒素质粒 DNA 小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。

使用本试剂盒提取的质粒 DNA 内毒素含量极低, 可以用于细胞转染实验, 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 1.5-5.0mL 过夜培养的菌液, 加入一洁净的 2mL 离心管中, 室温 6000rpm 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 250 μ L 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 250 μ L 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, 避免与空气长接触。

4、向管中加入 350 μ L 预冷至 4 $^{\circ}$ 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、室温 12000rpm 离心 3-4min。

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、小心吸取 700 μ L 上清液, 与 700 μ L Yfxbio $^{\circledR}$ DS 充分混合, 4 $^{\circ}$ C 静置 20min, 12000rpm 离心 10min。

7、吸取上清液转移至新的洁净离心管中, 加入 300 μ L Buffer YG, 充分混合, 转移至吸附柱内 (提前套入收集管中), 室温 12000rpm 离心 30s, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱套入收集管内。

8、向吸附柱中加入 700 μ L Yfxbio $^{\circledR}$ WB, 室温 12000rpm 离心 1min, 弃去收集管中的滤液, 将吸附柱重新套入收集管中。

9、向吸附柱中加入 700 μ L Yfxbio $^{\circledR}$ WS, 室温 12000rpm 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、(可选) 重复使用 700 μ L 70% 的乙醇室温洗涤柱子, 室温 12000rpm 离心 1min。

注: 使用 70% 乙醇漂洗有利于提高 DNA 的纯度, 但是不建议洗涤超过 2 次。

11、弃去收集管中的滤液, 将吸附柱重新套入收集管中, 13000rpm 离心 2min, 以甩干柱子基质中残余的液体。

注: 此步骤不可省略, 否则将导致乙醇残留于 DNA 中, 影响后续实验。

12、把吸附柱套入一新的 1.5mL 无酶离心管, 加入 50 μ L Yfxbio $^{\circledR}$ ES 至柱膜中央, 室温静置 1-5min, 13000rpm 离心 1min, 洗脱 DNA。

注: 1) Yfxbio $^{\circledR}$ ES 提前预热至 65 $^{\circ}$ C, 对于增加质粒 DNA 的产量会有帮助。

2) Yfxbio $^{\circledR}$ ES 务必要加入到柱膜中间部位, 且确保全部覆盖柱膜。

13、质粒 DNA 可短期储存于 4 $^{\circ}$ C, 长期需储存于 -20 $^{\circ}$ C。