

HB210802

MolPure® Endo-free Plasmid Maxi Kit 无内毒素质粒大量提取试剂盒**产品信息**

产品名称	产品货号	规格
MolPure® Endo-free Plasmid Maxi Kit 无内毒素质粒大量提取试剂盒	19036ES10	10 T

产品描述

MolPure® Endo-free Plasmid Maxi Kit 适用于从 150-300 mL 大肠杆菌 LB 培养液中快速提取 0.5-2 mg 纯净的高拷贝质粒 DNA，提取率高达 80-90%，具有高效、快速、方便等特点。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，配合本公司独特的裂解液配方可以最大限度的回收高纯度 DNA。提取的 DNA 纯度高，内毒素残留极低(<0.1 EU/μg DNA)，细胞转染效果极佳，也可直接用于酶切、转化、PCR、体外转录、测序等各种分子生物学实验。

试剂盒组分

类别	编号	组分名称	19036ES10 (10 T)
Part I	19036-A	RNase A (10 mg/mL)	750 μL
	19036-B	去内毒素溶液 ER (ER Solution E1)	25 mL
Part II	19036-C	缓冲液 RS* (RS Buffer E1*)	77 mL
Part III	19036-D	DNA 吸附柱 E1 (MolPure® DNA Column E1)	10 个
	19036-E	50 mL 收集管 (50 mL Collection Tube E1)	20 个
	19036-F	裂解液 LB (LB Buffer E1)	77 mL
	19036-G	结合液 BD (BD Buffer E1)	77 mL
	19036-H	去蛋白液 PL* (PL Buffer E1*)	63 mL
	19036-I	漂洗液 W* (Wash Buffer*)	50 mL
	19036-J	洗脱液 (Elution Buffer)	20 mL

运输与保存方法

Part I 组分冰袋运输，-20℃保存；Part II 组分冰袋运输，4℃保存；Part III 组分常温运输，室温保存。

产品有效期 12 个月。

注意事项

1. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。
2. 注意观察各溶液是否有析出或浑浊（尤其冬季等室温为低温环境时），可 37℃ 温浴复溶至溶液澄清，避免影响使用效果。
3. 为了您的安全和健康，请穿实验服并佩戴一次性手套操作。
4. 本产品仅作科研用途！

实验前准备

1. 自备设备和试剂：台式离心机、振荡仪、水浴锅或金属浴，异丙醇，离心管等。
2. 除特殊指明外，所有的离心步骤均在室温完成，使用可以达到 12,000 rpm 转速的传统台式离心机。
3. 首次使用前，将 RNase A (10 mg/mL) (19036-A) 加入缓冲液 RS (19036-C) 瓶中，充分混匀后使用，并做好标记。每次使用后置于 4℃ 保存。
4. 首次使用前，须在去蛋白液 PL* (19036-H) 瓶中加入 37 mL 的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。
5. 首次使用前，须在漂洗液 W* (19036-I) 瓶中加入 4 倍体积的无水乙醇，充分混匀后使用，并做好标记。如果发现漂洗液 W* 由于运输或保管不当造成容量严重不准，请用量筒定容后再加入 4 倍体积的无水乙醇。每次使用后将瓶盖盖紧，以保持漂洗液 W* 中的乙醇含量。

操作方法

一、样本预处理：

1. 取 150-200 mL 过夜培养的菌液分装至 50 mL 离心管中，10,000 rpm 离心 1 min，弃掉上清液，收集菌体。
【注】：对于低拷贝质粒或 >10 kb 的质粒，建议适当加大菌体量，并等比例增加**缓冲液 RS***、**裂解液 LB** 及**结合液 BD** 用量。
2. 加入 7.5 mL **缓冲液 RS***，吹打或涡旋重悬菌体沉淀。
【注】：确保菌体彻底重悬。
3. 加入 7.5 mL **裂解液 LB**，温和上下翻转 6-8 次以充分裂解菌体。室温放置 4 min。
【注】：菌体裂解应温和进行，避免造成基因组 DNA 剪切断裂。
【注】：裂解后的菌液应清亮粘稠。若出现浑浊，可能为菌体裂解不彻底，可考虑减少菌体使用量。
4. 加入 7.5 mL **结合液 BD**，立即温和上下翻转 6-8 次充分混匀。10,000 rpm 离心 10-15 min，小心收集上清。
【注】：避免吸取到漂浮白色沉淀。
5. 加入 1/10 上清体积的**去内毒素溶液 ER (约 2.4 mL)**，颠倒混匀，冰浴 5 min 至溶液变清亮透明（或稍有浑浊）。冰浴过程中，颠倒混匀 2-3 次。
6. 室温（25℃）放置 5 min，待溶液恢复浑浊后，颠倒混匀。
【注】：室温温度较低时，可 37℃ 水浴以便恢复浑浊。
7. 室温 10,000 rpm 离心 10 min 分层。上层水相为 DNA，下层蓝色油状相为内毒素等物质。小心收集上层水相至新离心管。
8. 加入 0.5 倍体积的**异丙醇 (约 11 mL, 自备)**，充分颠倒混匀。

二、质粒 DNA 提取：

1. 将 DNA 吸附柱 E1 套入 50 mL 收集管中，备用。
2. 将上述预处理混合液加入到 DNA 吸附柱 E1 中，10,000 rpm 离心 1 min，弃掉废液。
【注】：混合液每次最大加入体积 10 mL，可分多次离心。
3. 加入 10 mL **去蛋白液 PL***，10,000 rpm 离心 1 min，弃废液。
【注】：确保**去蛋白液 PL***已添加无水乙醇。
4. 将 DNA 吸附柱 E1 放回收集管，加入 10 mL **漂洗液 W***，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃废液。
【注】：确保**漂洗液 W***已添加无水乙醇。
5. 重复一遍步骤 4。
6. 将 DNA 吸附柱 E1 放回收集管，空柱 12,000 rpm 室温离心 3 min，以除去残留的**漂洗液 W***。室温晾干 3 min。
7. 将 DNA 吸附柱 E1 放入新的 50 mL 收集管中，在 DNA 吸附柱 E1 中央加入 1-2 mL **洗脱液**，室温放置 2 min。然后 10,000 rpm 离心 2 min。收集滤液，即为 DNA 溶液。
【注】：可通过以下方式提高回收产量：①70℃ 预热**洗脱液**；②将 DNA 滤液再次上柱，室温放置 2 min 后，洗脱。
【注】：**洗脱液**不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。
8. 质粒 DNA 溶液可置于 -20℃ 长期保存。