

## Endo-free Plasmid Midi Kit

### 无内毒素质粒小提中量试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1517A	无内毒素质粒小提中量试剂盒	50T

#### 产品简介:

本试剂盒采用改良的碱裂解处理方法，同时采用特殊的缓冲液和过滤柱，结合玻璃纤维素膜特异性吸附溶液中 DNA 的方法，可有效的去除内毒素、蛋白等杂质，适合从 5-15 mL 细菌培养物中提取质粒 DNA；整个提取过程仅需 1 个小时，方便快捷。纯化的质粒 DNA 可适用于各种常规操作，包括转染一些常规的传代细胞、酶切、PCR、测序、连接、转化、文库筛选、体外翻译等。

#### 产品特点:

- ◇ 操作简便：快速去除内毒素，其他步骤亦简便高效；
- ◇ 纯度高：沉淀致密，去杂干净；
- ◇ 所获得质粒内毒素残留低，满足于高质量的转染。

#### 产品组分:

编号	组分	规格
BL1517A-1	RNase A (10 mg/mL)	300 $\mu$ L
BL1517A-2	Buffer BL	30 mL
BL1517A-3	Buffer PI	30 mL
BL1517A-4	Buffer PII	30 mL
BL1517A-5	Buffer PIII	30 mL
BL1517A-6	Buffer DW	30 mL
BL1517A-7	Buffer DW2	12 mL
BL1517A-8	Buffer EB	15 mL
BL1517A-9	吸附柱 Spin Columns EC4	50 个
BL1517A-10	过滤柱 Filtration Columns	50 个
BL1517A-11	收集管 Collection Tubes	2 $\times$ 50 个

#### 注意事项:

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 试剂盒中提供有 RNase A，简短离心，然后将所有 RNase A 溶液加入 Buffer PI，混匀后置于 2-8°C 保存。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 Buffer DW2 中加入 48 mL 无水乙醇。
3. 所有离心步骤均为使用常规台式离心机室温下进行离心，速度为 12,000 rpm。
4. 使用前请先检查 Buffer PII 和 Buffer PIII 是否出现浑浊，如有混浊现象，可在 37°C 水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。注意不要直接接触 Buffer PII 和 Buffer PIII，使用后应立即

Note: For in vitro research use only, not for diagnostic or therapeutic use, This product is not a medical device.

注意：在体外研究使用，不用于诊断或治疗用途，本产品不是医疗装置。



即盖紧盖子。

5. 如果提取质粒为低拷贝质粒时，应加大菌体使用量，同时按比例增加 Buffer PI、Buffer PII 和 Buffer PIII 用量，其它步骤相同。

## 使用方法

### 样本处理

1. 柱平衡：向吸附柱 Spin Columns EC4 中（吸附柱放入收集管中）加入 500  $\mu\text{L}$  的平衡液 Buffer BL（当天处理），12,000 rpm 离心 1 min，弃去收集管中滤液，将吸附柱重新放回收集管中；
2. 取 5~15 mL 过夜培养的菌液，12,000 rpm 离心 1 min，弃上清，然后将离心管在吸水纸上轻轻拍去尽残液；
3. 加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer PI（使用前将试剂盒提供的 RNase A 全部加入），旋涡震荡或用移液器充分吹打使菌体重悬均匀；

**注：确保菌体沉淀悬浮均匀，含未悬浮菌块会影响裂解，导致提取质粒的浓度及纯度降低。**

4. 加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer PII，温和颠倒混匀 8~10 次使菌体完全裂解；

**注：不可剧烈震荡，以免造成基因组 DNA 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 Buffer PII 的用量，在后续的操作中按倍数增加 Buffer PIII 的用量。**

5. 加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer PIII，立即温和颠倒混匀 8~10 次，此时将出现白色絮状沉淀，室温放置 10 min，12,000 rpm 离心 10 min，此时在离心管底部形成沉淀；

**注：Buffer PIII 加入后应立即混合，避免产生局部沉淀，如果上清中还有微小白色沉淀，可再次离心后取上清。**

6. 将上一步收集的上清液分次加入过滤柱（过滤柱放入收集管中），12,000 rpm 离心 2 min，然后将滤液转移至干净的 2 mL 离心管中（自备）。

7. 加入 0.3 倍滤液体积的异丙醇，颠倒混匀（加入异丙醇过多容易导致 RNA 污染），所得混合溶液转移到平衡好的吸附柱中；

**注：过滤后滤液会损失，根据损失的不同请加入不同体积的异丙醇。吸附柱的最大容积为 700  $\mu\text{L}$ ，所以需要分次过柱。**

8. 12,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中的滤液，将吸附柱放入收集管中；

9. 向吸附柱中加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer DW，12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将吸附柱重新放回收集管中；

10. 加入 500  $\mu\text{L}$  Buffer DW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 30 s，弃滤液，将吸附柱重新放回收集管中；

11. 重复操作步骤 10 一次；

12. 12,000 rpm 离心 3 分钟；

13. 将吸附柱置于新的 1.5 mL 离心管中，加入 100-300  $\mu\text{L}$  Buffer EB（Buffer EB 需在 65-70°C 水浴中预热 3-5 min）至吸附膜的中央，室温放置 1 min，12,000 rpm 离心 1 min 将质粒溶液收集到离心管中。

**注：如果使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至  $\geq 7.0$ 。**

### 有效期：

室温保存 12 个月。

