

Endo-free Plasmid Maxi Kit

无内毒素质粒大提试剂盒

产品编号	产品名称	规格
BL1181A	无内毒素质粒大提试剂盒	10T

产品简介:

本试剂盒采用改良的碱裂解处理方法及硅胶膜吸附技术，可特异、高效地获得无内毒素高纯度质粒 DNA；柱上直接去除内毒素，操作简便。所得质粒可直接用于细胞转染、酶切、连接、转化、PCR、测序等分子生物学实验。高拷贝质粒，100 mL 菌液通常可获得 500~1500 µg 质粒，低拷贝质粒，200 mL 菌液通常可获得 200~600 µg 质粒。

产品特点:

- ◇ 操作简便：柱上快速去除内毒素，其他步骤亦简便高效；
- ◇ 纯度高：沉淀致密，去杂干净；
- ◇ 颜色指示：关键步骤颜色变化指示判断。

产品组分:

编号	组分	规格
BL1181A-1	RNase A (10 mg/mL)	1.0 mL
BL1181A-2	Buffer BL	25 mL
BL1181A-3	Buffer I	100 mL
BL1181A-4	Buffer II	100 mL
BL1181A-5	Buffer III	100 mL
BL1181A-6	Endotoxin Removal Buffer	60 mL
BL1181A-7	Buffer W1 (concentrate)	60 mL
BL1181A-8	Buffer EB	30 mL
BL1181A-9	吸附柱 EC (with Collection Tubes)	10 个
BL1181A-10	Collection Tubes	10 个

使用方法

样本处理

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 Buffer BL（当天处理），10,000 rpm 离心 2 min，弃去收集管中滤液，将吸附柱重新放回收集管中；
2. 取 100~200 mL（对于高拷贝质粒，建议 100 mL 菌液；对于低拷贝质粒，建议 200 mL 菌液，最高不超过 300 mL 菌液）过夜培养的菌液，10,000 rpm 离心 2 min，弃上清；
3. 加入 10 mL Buffer I（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，呈现出均匀混浊的棕红色；

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 10 mL Buffer II，温和颠倒混匀使菌体完全裂解，直至溶液变成清亮、粘稠的紫红色；

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。



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 II 的用量，在后续的操作中按倍数增加 Buffer III 的用量。

5. 加入 10 mL Buffer III，立即温和颠倒混匀，可见红黄相间的絮状物产生，继续混匀直至完全变为黄色。10,000 rpm 离心 10 min，小心将上清转移至干净离心管（自备）中（不要带入沉淀）；

注：

(a) Buffer III 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；

(b) 离心后在最上层可能会形成一层致密的漂浮膜，注意不要倒入吸附柱；

(c) 如果实验室采用吊篮式离心机，不是固定转子，转速达不到 10000 rpm，可以采用吊篮离心的最大转速 4250 g，离心 10 min。

6. 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）；

7. 将步骤 6 所得混合溶液转移到平衡好的吸附柱 EC (with Collection Tubes) 中，10,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中的滤液（吸附柱最大容积为 15 mL，即上步中所得溶液需分 2~3 次过柱）；

注：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 10 mL，以防漏液。

8. 向吸附柱 EC 中加入 5 mL Endotoxin Removal Buffer，静置 5 min，10,000 rpm 离心 1 min，弃滤液；

9. 加入 10 mL Buffer W1（使用前检查是否已加入无水乙醇），10,000 rpm 离心 1 min，弃滤液；

10. 加入 5 mL Buffer W1，10,000 rpm 离心 1 min，弃滤液；

11. 将吸附柱 EC 放回空收集管中，10,000 rpm 离心 5 min；

12. 将吸附柱 EC 置于新的 50 mL 离心管中，开盖放置 5 min，彻底挥发乙醇；

13. 在吸附膜的中间部位加入 1~2 mL 洗脱液 Buffer EB（60~65°C 预热效果更好），常温放置 2 min，10,000 rpm 离心 2 min，即得质粒 DNA（如需较多量 DNA，可将得到的溶液重新转入吸附柱，重复此步骤）。

注意事项：

1. 细菌培养时间一般为 12~16 h，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突变；
2. 每次使用时需观察 Buffer II 和 Buffer III 是否形成沉淀，如有沉淀于 37°C 溶解后使用；
3. 用平衡液处理过的柱子建议立即使用，放置时间过长影响使用效果；
4. 第一次使用前，按照瓶上标签向 Buffer W1 中加入 180 mL 无水乙醇；
5. Buffer I 加入 RNase A 后置于 2~8°C 保存；
6. 本产品仅限于专业人员的科学研究用，不得用于临床诊断或治疗，不得用于食品或药品；
7. 为了您的安全和健康，请穿实验服并戴一次性手套操作。

有效期：

室温保存 12 个月。

