CAT#: GZ010107

无内毒素质粒小提试剂盒

EndoFree Mini Plasmid Purification Kit

（离心柱型）

使用手册 V2.0

北生京泽（启东）生物科技有限公司
江苏省南通市启东市启东经济开发区林洋路 500 号
网址：www.bsgeneze.com；电话：40001-59600

产品及特点

本试剂盒适用于无内毒素质粒 DNA 的小量制备。菌体经碱裂解、高盐、低 pH 处理，质粒可从菌体中释放出来，并特异、高效地被离心柱硅胶膜吸附。再经内毒素清除液清洗，可将绝大多数菌体内毒素清除干净，然后通过清洗液的清洗可去除蛋白及其他杂质，最后在低盐、高 pH 条件下洗脱得到高纯度无内毒素的质粒 DNA。使用本试剂盒可从 1 - 5 ml 过夜培养的菌液中纯化得到高达 20 μg 的无内毒素质粒 DNA，所得质粒除可用于常规分子生物学实验外，还适合细胞株的转染实验。它具有下列特点：

1. 快捷、高效：操作简便，得率高，节约时间；
2. 纯度高：沉淀致密，去杂干净；
3. 内毒素去除简单：柱上去除内毒素，方便快速，清除干净。

成分规格

产品组成	GZ010107-50	GZ010107-100	GZ010107-200
Buffer BL	25 ml	50 ml	100 ml
Buffer S1	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer S2	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer S4	15 ml	30 ml	60 ml
ToxinOut Buffer	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer W2（concentrate）	15 ml	30 ml	60 ml
Buffer EB	10 ml	10 ml	30 ml
RNase A (10 mg/ml)	150 μl	300 μl	600 μl
Spin Column with Collection Tubes	50 套	100 套	200 套

（注意：使用前将全部 RNase A 溶液加到 Buffer S1 中混合均匀，2 - 8°C保存;按要求在 Buffer W2 中加入无水乙醇）

保存条件

在室温(15-25℃)干燥条件下，可保存 12 个月；更长时间的保存可置于 2-8℃。若溶液产生沉淀，应在使用前置于 37℃下溶解沉淀。加入 RNase A 后的 Buffer S1 应置于 2-8℃保存，可稳定保存 6 个月。

使用方法

柱平衡：向吸附柱中（吸附柱放入收集管中）加入 400 µl 的平衡液 BL，12,000 rpm (-13,400×g) 离心 1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子）

1. 取 1 - 5 ml 过夜培养的菌液，室温 12,000 rpm 离心 1 min，尽量将上清去除干净。

（注意：根据菌液的浓度决定取液量，浓度高时取 1.5 ml 菌液离心即可，浓度低时可多收集一次）

2. 加入 250 µl Buffer S1，旋涡震荡或用移液器充分吹打使菌体重悬均匀。

（注意：菌体沉淀一定要悬浮均匀，如有未彻底悬浮的菌块会影响裂解，导致提取的质粒浓度及纯度降低）

3. 加入 250 µl Buffer S2，温和颠倒混匀使菌体完全裂解，直到溶液变成清亮、粘稠。

（注意：不可剧烈震荡，以免造成基因组 DNA 片段的污染，所用时间不要超过 5 min，以免质粒受到破坏）

4. 加入 250 µl Buffer S4，立即颠倒混匀 6-8 次，12,000 rpm 离心 10 min，小心将上清液转移到一干净的离心管中，加入 250 µl 异丙醇混匀。

（注意：Buffer S4 加入后应立即混合，避免产生局部沉淀）

5. 将混合液转入离心吸附柱中，12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中滤液。

（注意：吸附柱的最大容量为 750 µl，分两次转入）

6. 向吸附柱中加入 250 µl ToxinOut Buffer，室温静置 5 min，12,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中滤液。

7. 加入 600 µl Buffer W2，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中滤液。

（注意：Buffer W2 为浓缩液，按要求加入无水乙醇，用后应立即盖紧瓶盖，以防酒精挥发）

8. 加入 500 µl Buffer W2，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中滤液。

9. 干燥。将离心吸附柱于 12,000 rpm 离心 2 min，甩干残留漂洗液。

（注意：此步不能省略，否则残留乙醇会影响质粒的后续使用）

10. 将离心吸附柱置于一个新的 1.5 ml 塑料离心管（自备）中，加入 50 - 100 µl 的洗脱液 Buffer EB，室温放置 2 min。12,000 rpm 离心 1 min，离心管底溶液即质粒 DNA。

（注意：为增加洗脱效率，可将洗脱液在 60°C预热。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 - 8.5 之间，为了增加质粒回收率，可将得到的溶液重新加入到离心管中，室温放置 2 min，再次离心收集）

低拷贝或大质粒（>10 kb）提取

如果所提质粒为低拷贝质粒或大于 10 kb 的大质粒，应加大菌体使用量，使用 5 - 10 ml 过夜培养物，同时按照比例增加 Buffer S1、S2、S3 的用量，洗脱液 Buffer EB 应在 60℃水浴预热，在吸附和洗脱时可以适当延长时间，以增加提取效率。其它步骤相同。

注意事项

- 细菌培养时间一般为 12 - 16 小时，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质粒 DNA 突变；
- 每次使用时都要注意 Buffer S2 和 S4 是否形成沉淀，如有沉淀 37℃溶解后再用；
- 注意溶液 S1，S2 和 S4 的用量比例，若细菌量增大，需按比例放大这些溶液的使用量；
- 质粒的产量跟细菌量、质粒拷贝数、质粒大小和操作规范程度密切相关。

关联产品

产品编号	产品名称
GZ070101-500	GeneRed 核酸染料
GZ070102-500	Geneblue 核酸染料
GZ010108-50	无内毒素质粒小提中量试剂盒
GZ010109-25	无内毒素质粒大提试剂盒
GZ30003	MaxFect lipo 3000 Transfection Reagent
GZ20003	MaxFect lipo 2000 Transfection Reagent
GZ10008	PolyproFect Transfection Reagent
GZ11995	高糖 DMEM 培养基，含 L-谷氨酰胺和丙酮酸钠
GZ11875	RPMI 1640 培养基，含 L-谷氨酰胺

关注京泽微信公众号
了解更多产品资讯