

Eltbio™
柱膜法高纯度质粒小提试剂盒

Eltbio™
Column PurePlasmid Mini Extraction Kit

使用说明书1.0

文件编号：LD40325401

版本编号：V1.0

试剂盒基本信息

【产品名称】 Eltbio™ 柱膜法高纯度质粒小提试剂盒

【英文名称】 Eltbio™ Column PurePlasmid Mini Extraction Kit

【目录号】 LD403-010、LD403-030、LD403-100

【运输条件】 常温运输

【保存条件】 RNase A放于-20℃，其它组分室温

【有效期】 12 个月

试剂盒组成

编号	Kit Component/ 试剂盒组成	LD403-010/ 100份样品	LD403-030/ 300份样品	LD403-100/ 1000份样品
1	P1 Buffer (菌体悬浮液)	25 mL	75 mL	250 mL
2	P2 Buffer (菌体裂解液)	25 mL	75 mL	250 mL
3	P3 Buffer (复性液)	35 mL	105 mL	350 mL
4	Wash Buffer 1 (清洗液 1)	50 mL	150 mL	500 mL
5	Elute Buffer (洗脱液)	10 mL	30 mL	100 mL
6	RNase A (10 mg/mL)	300 µL	900 µL	3 mL
7	DNA吸附柱	100个	300个	1000个

特别注意事项

1. 使用前将RNase A溶液全部加入P1 Buffer中，4℃保存备用；
2. 使用前若发现 P2 Buffer、P3 Buffer有沉淀，可在37℃水浴几分钟，即可恢复澄清（请勿剧烈晃动P2 Buffer）；
3. 注意不要直接接触溶液P2 Buffer和P3 Buffer，使用后应立即盖紧盖子；
4. 提取的质粒量与细菌培养的浓度及菌的拷贝数等因素有关；
5. 请务必仔细阅读本试剂盒操作说明书，并严格按照操作步骤完成操作；

试剂盒说明

Eltbio™ 柱膜法高纯度质粒小提试剂盒 (Eltbio™ Column PurePlasmid Mini Extraction Kit) , 适用于从小量菌液 (1-5ml) 中进行质粒DNA抽提。试剂盒过程无需酚氯仿抽提、乙醇沉淀等步骤, 通过离心吸附柱在高盐状态下高效专一的结合溶液中的质粒DNA, 并可最大限度的去除去除蛋白质、基因组、RNA和其他杂质, 从而保证提取质粒 DNA 的纯度。

所得 DNA 产物 OD260/280 比值在 1.7~1.9 之间, 得到的质粒DNA可直接用于细胞转染、PCR、酶切、测序、连接等生物学实验。

【适应样本】

菌液

【自备仪器、耗材以及试剂】

- | | |
|----------------|-----------|
| 1. 水浴锅或金属浴振荡器; | 2. 涡旋振荡仪; |
| 3. 离心机; | 4. 无水乙醇; |
| 5. 常规耗材; | |

【实验操作流程】

1. 菌体收集

将适量菌液(1-5mL)转移至EP管中，室温13,000rpm离心 30s 收集菌体沉淀，吸弃上清液。

2. 菌体悬浮

向EP管中加入 250μL **P1 菌体悬浮液**和 3μL **RNase A** (10 mg/mL) 使用移液器或涡旋振荡器充分混匀，悬浮菌体沉淀。

注意：如果菌块未彻底混匀，将会影响裂解效果，导致提取量和纯度偏低。

3. 菌体裂解

向EP管中加入 250μL **P2 菌体裂解液**，上下轻柔颠倒EP管约3min使菌体充分裂解（不可剧烈荡），此时溶液应变得清亮粘稠。

注：如菌液量较大，可延长裂解时间至约4min，但不宜超过5min，避免质粒受到破坏。

4. 质粒复性

向EP管中加入350μL **P3 复性液**，上下轻柔颠倒EP管8-10次使质粒复性，充分混匀，此时应出现白色絮状沉淀。将EP管于13,000rpm离心5-10min。

注意：P3 复性液加入后应立即混匀，避免产生局部沉淀。

5. 核酸吸附

将步骤4中所得的上清液转移到已装入收集管的DNA吸附柱中，13,000 rpm离心30秒钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

6. 清洗

1) 向吸附柱中加入500μL **清洗液 1**，13,000 rpm离心30秒，倒掉收集管中的废液。

2) 向吸附柱中加入500μL **80%乙醇**，13,000 rpm离心30秒，倒掉收集管中的废液。

3) 13,000 rpm离心2分钟，除去残留液体并使痕量乙醇完全挥发。

注意：倒弃收集管内液体后再离心，乙醇残留会影响质粒的质量。

7. 核酸洗脱

将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附膜的中间部位加入50-100 μL **洗脱液**，室温放置2分钟，13,000 rpm离心30s，将质粒溶液收集到离心管中，-20℃保存质粒。

注意：1) 为了增加质粒的回收效率，可将得到的溶液加回到吸附柱放置2min后再次离心收集。

2) 质粒拷贝数较低或> 10 kb时，洗脱液在65-70 °C水浴预热，可以增加提取效率。

(25修订版)

* 本产品仅供科研使用，请勿用于临床诊断及其他用途。

版权声明：© 上海英莱盾生物技术有限公司保留本使用指南所有权利。