



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

版权声明：上海英莱盾生物技术有限公司保留本试剂盒说明书所有权利及解释权

## 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°C，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°C保存备用；
2. 使用前若发现 P2 Buffer、P3 Buffer有沉淀，可在37°C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 250 $\mu$ L P1 菌体悬浮液和 3 $\mu$ L 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 250 $\mu$ L 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350 $\mu$ L 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500 $\mu$ L 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500 $\mu$ L 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  $\mu$ L 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°C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。