

EasyPure[®] HiPure Plasmid MiniPrep Kit

使用前请仔细阅读说明书

目录号: EM111

版本号: Version 2.0

保存: 试剂盒在室温(15-25°C)干燥条件下保存一年。

产品说明

本试剂盒采用改良的碱裂解法裂解大肠杆菌细胞, 利用硅胶膜离心柱特异地吸附DNA, 适用于从≤20 ml LB培养基培养的大肠杆菌中高效地提取质粒DNA, 溶液包含指示剂, 通过颜色的变化, 指示裂解、中和是否完全, 从而保证质粒提取的质量, 实现操作的可视化; 柱上去除内毒素, 操作简便。提取的质粒DNA适用于酶切、连接、转化、测序和转染等实验。

特点

- 操作可视化: 溶液LB(蓝色)、NB(黄色), 通过颜色的变化, 指示裂解、中和是否完全, 从而保证质粒提取的质量。
- 快速: 1小时之内完成提取。
- 简单: 柱上去除内毒素。
- 提取量高(高达40 μg)。
- DNA纯度高, 无内毒素。

试剂盒组成

Component	EM111-01 (50 rxns)
Resuspension Buffer (RB)	15 ml
Lysis Buffer (LB, Blue)	15 ml
Neutralization Buffer (NB, Yellow)	20 ml
ToxinOut Buffer (TB)	15 ml
Wash Buffer (WB)	10 ml
Elution Buffer (EB)	5 ml
RNase A (10 mg/ml)	150 μl
Mini-Plasmid Spin Columns with Collection Tubes	50 each

操作步骤

使用前, 将RNase A加入RB中, 2-8°C保存; 加入40 ml 100%乙醇到WB。

LB Media	RB	LB	NB
≤5 ml	250 μl	250 μl	350 μl
5~10 ml	500 μl	500 μl	700 μl
10~15 ml	750 μl	750 μl	1050 μl
15~20 ml	1000 μl	1000 μl	1400 μl

- 1、取过夜培养的菌液, 10,000×g离心1分钟, 去上清(尽量吸尽)。如菌液量过大, 可分多次离心收集。
- 2、根据上表, 加入无色溶液RB(含RNase A), 振荡悬浮菌体, 不应留有小的菌块。
- 3、根据上表, 加入蓝色溶液LB, 温和地上下翻转混合4-6次, 使菌体充分裂解, 形成蓝色透亮的溶液, 颜色由半透亮变为透亮蓝色, 指示完全裂解(不宜超过5分钟)。
- 4、根据上表, 加入黄色溶液NB, 轻轻混合5-6次(颜色由蓝色完全变成黄色, 指示混合均匀, 中和完全), 直至形成紧实的黄色凝集块, 室温静置2分钟。
- 5、12,000×g离心5分钟, 小心吸取上清加入离心柱中。12,000×g离心1分钟, 弃流出液。(如上清体积大于800 μl, 可以分成多次加入柱中, 并同上离心, 弃流出液。)



- 6、加入250 μ l溶液TB，室温静置10分钟，12,000 \times g离心1分钟，弃流出液。
- 7、加入650 μ l溶液WB，12,000 \times g离心1分钟，弃流出液。
- 8、12,000 \times g离心1-2分钟，彻底去除残留的WB。
- 9、将离心柱置于一干净的离心管中，在柱的中央加入30-50 μ l EB或去离子水（pH>7.0）室温静置1分钟。（EB或去离子水在60-70 $^{\circ}$ C水浴预热，使用效果更好）。
- 10、10,000 \times g离心1分钟，洗脱DNA，洗脱出的DNA于-20 $^{\circ}$ C保存。

注意事项

- 所有离心均在室温下进行。
- 加入LB或NB后，操作一定要温和，剧烈混合会导致基因组DNA污染。
- 使用时，将试剂盒携带的RNase A全部加入到RB溶液中，混合均匀，2-8 $^{\circ}$ C保存。
- 检查LB是否混浊，如有混浊，可在37 $^{\circ}$ C水浴中加热几分钟，使其彻底溶解且使用后立即盖紧盖子，以免pH发生变化。
- 本试剂盒最大提取量40 μ g。如质粒提取量低，可增加菌液量。
- RB、LB、NB的用量请严格参照说明书，菌体量过大会导致裂解不充分，影响质粒DNA的得率及纯度。
- 反应次数以5 ml菌液为一次反应计算。

本产品仅供研究，不用于临床诊断。

版本号: V2.0-202306

服务电话 +86-10-57815020

服务邮箱 complaints@transgen.com

