高纯度质粒大提试剂盒 HiPure Plasmid MaxiPrep Kit

（离心柱型）

目录号：SP0104-10

产品包装

试剂盒成分	10 preps
Buffer BL	25 ml
Solution I	100 ml
Solution II	100 ml
Buffer N3	100 ml
Buffer WB1	52 ml
Buffer WB2	60 ml
Buffer EB	30 ml
RNase A (10 mg/ml)	1ml
MaxiSpin Columns	10 个
Collection Tubes 50 ml	20 个

（注意：使用前将全部 RNase A 溶液加到 Solution I 中混合均匀，2～8℃保存;按要求在 Buffer WB1 和 Buffer WB2 中加入无水乙醇）

保存条件

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，在使用前置于 37℃下溶解。单独包装的 RNase A 在室温可稳定保存 12 个月。加入 RNase A 后的 Solution I 应置于 2～8℃保存，可稳定保存 6 个月。

产品简介

本试剂盒适用于高纯度质粒 DNA 的大量制备与纯化。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。通过漂洗液清洗可去除蛋白及其他杂质，在低盐、高 pH 条件下洗脱，最后得到高纯度的质粒 DNA。使用本试剂盒可从 100 ～ 200 ml 过夜培养的菌液中纯化得到高达 1.5 mg 的高纯度质粒 DNA，可在 60 min 之内完成提取任务。所得质粒可直接用于酶切、转化、PCR、测序、细胞转染等分子生物学实验。

产品特点

1. 快速：步骤少，操作简便，节约时间；
2. 纯度高：所得质粒可直接用于酶切、转化、PCR、测序、转染等分子生物学实验。

注意事项

1. 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；
2. 每次使用时都要注意 Solution II 是否形成沉淀，如有沉淀 37℃溶解后再用；
3. 加入 Solution II 裂解细菌，直至溶液成粘稠透明状，时间过长会导致质粒 DNA 变性；
4. 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，一般 150 ml 过夜培养菌体可收获约 1 mg 高拷贝质粒。

操作步骤

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 BL，10,000 rpm 离心 2 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 100～200 ml 过夜培养的菌液，室温 10,000 rpm 离心 2 min，弃上清。
2. 加入 10 ml Solution I，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 10 ml Solution II，温和颠倒混匀使菌体完全裂解，直到溶液变成清亮、粘稠的紫红色。

（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，如未完全变得清亮，可能是菌体太多，可增加 Solution II 的用量，在后续的操作中 Solution III 的用量也要相应增加）

4. 加入 10 ml Buffer N3，立即温和颠倒混匀，可见红黄相间的沉淀物产生，继续混匀直到完全变为黄色，室温静置 2 min，然后 10,000 rpm 离心 10 min。

（注意：Buffer N3 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）

5. 将上清转移至干净离心管（自备）中，加入 0.3 倍滤液体积的异丙醇，上下颠倒混匀。

6. 小心将上清液转移到离心吸附柱中（吸附柱放入 50 ml 收集管中），静置 2 min，让质粒 DNA 与吸附柱中的硅胶膜充分结合 10,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中的滤液。

（注意：如一次转移不完可分多次转入）

7. 向吸附柱中加入 10 ml Buffer WB1，10,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中滤液。

（注意：如果宿主菌是 endA-，如 DH5α 若 TOP10，此步骤可省略。如果宿主菌是 endA+，如 TG1、BL21、HB101、JM101 等，此步骤不可省略，因这些宿主菌含有大量的核酸酶，易降解质粒。如果提取低拷贝质粒也推荐采用此步骤）

8 加入 10 ml Buffer WB2，室温 10,000 rpm 离心 1 min，弃收集管中滤液。

（注意：Buffer WB2 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）

9 重复步骤 8 一次。

10. 室温 10,000 rpm 离心 5 min，甩干残留液体。

11. 将离心吸附柱置于一个新的 50 ml 塑料离心管中，打开管盖，放置几分钟，使乙醇彻底挥发干净。

12. 加入 1～2 ml 洗脱液 Buffer EB，室温放置 2 min。10,000 rpm 离心 2 min，离心管底溶液即质粒 DNA。

（注意：为增加洗脱效率，可将得到的质粒溶液再次加入到吸附柱中重复步骤 11 一次，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）

Science Tool

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。