

天
净
沙
系
列

CAT#:60807-50
常温运输及保存

TIANDZ

柱式无内毒素质粒 DNA_{OUT}

Column Endo-free Plasmid DNA_{OUT}

使用手册 V2.3

北京天恩泽基因科技有限公司

北京市海淀区上地信息路 26 号北京市留学人员海淀创业园中关村创业大厦 506

网址: www.tiandz.com; 电话: 400-6765278; 电邮: order@tiandz.com

<p>产品及特点</p>	<p>本产品是整合天泽基因柱式质粒 DNAout 和菌体内毒素清除剂两产品而成。菌体内毒素清除剂是天泽基因独家推出的产品，在质粒提取前就把细胞壁上的内毒素清除掉，彻底避免了目前通用的先提取 DNA+内毒素混合物，再从中纯化质粒 DNA 的弊端。用本产品提取的质粒 DNA，内毒素的污染浓度低，适合于转染等对内毒素的污染敏感的实验。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 操作简单,只在经典的柱式质粒 DNA 提取前,增加菌体内毒素清除一步。 2. 去内毒素效果好,处理一次可以去除 99%以上的内毒素。 3. 质粒丢失少,产率只比柱式质粒 DNAout 低 5-10%,效果好于先提质粒 DNA,再用液相内毒素清除剂处理的方法。 4. DNA 可以直接用于转染等实验。 																														
<p>规格及成分</p>	<table border="1" data-bbox="518 857 1310 1494"> <thead> <tr> <th>成份</th> <th>编号</th> <th>大纸盒包装</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>菌体内毒素清除剂</td> <td>90901</td> <td>200mL</td> </tr> <tr> <td>柱式质粒 DNAout 溶液 A</td> <td>60205a</td> <td>13 mL</td> </tr> <tr> <td>柱式质粒 DNAout 溶液 B</td> <td>60205b</td> <td>13 mL</td> </tr> <tr> <td>柱式质粒 DNAout 溶液 C</td> <td>60205c</td> <td>18 mL</td> </tr> <tr> <td>RNase A (10mg/mL)</td> <td>3160</td> <td>0.3mL</td> </tr> <tr> <td>离心吸附柱</td> <td>60911</td> <td>50 套</td> </tr> <tr> <td>通用洗柱液</td> <td>60408</td> <td>50 mL</td> </tr> <tr> <td>DNA 洗脱液 2.0</td> <td>111205</td> <td>10 mL</td> </tr> <tr> <td>使用手册</td> <td>60205sc</td> <td>1 份</td> </tr> </tbody> </table>	成份	编号	大纸盒包装	菌体内毒素清除剂	90901	200mL	柱式质粒 DNAout 溶液 A	60205a	13 mL	柱式质粒 DNAout 溶液 B	60205b	13 mL	柱式质粒 DNAout 溶液 C	60205c	18 mL	RNase A (10mg/mL)	3160	0.3mL	离心吸附柱	60911	50 套	通用洗柱液	60408	50 mL	DNA 洗脱液 2.0	111205	10 mL	使用手册	60205sc	1 份
成份	编号	大纸盒包装																													
菌体内毒素清除剂	90901	200mL																													
柱式质粒 DNAout 溶液 A	60205a	13 mL																													
柱式质粒 DNAout 溶液 B	60205b	13 mL																													
柱式质粒 DNAout 溶液 C	60205c	18 mL																													
RNase A (10mg/mL)	3160	0.3mL																													
离心吸附柱	60911	50 套																													
通用洗柱液	60408	50 mL																													
DNA 洗脱液 2.0	111205	10 mL																													
使用手册	60205sc	1 份																													
<p>运输及保存</p>	<p>常温运输及保存，有效期一年。RNase A (10mg/mL) 收到样品后需要低温保存。</p>																														
<p>自备试剂</p>	<p>菌液</p>																														
<p>使用方法</p>	<p>一：用菌体内毒素清除剂清除 E.coli 细胞壁上的内毒素。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 收集 1.5-5 mL E.coli 饱和菌液，12,000 rpm 离心 1 分钟，弃上清，得到细菌沉淀。 2. 加入 1 mL 菌体内毒素清除剂温和混匀后 10,000-12,000 rpm 离心 1 分钟，弃上清（含内毒素）。 3. 一次洗涤（1-2 步）可以去掉 90%以上的内毒素，如果需要，可以再重复上述洗涤操作步骤 3 次，得到的菌体可以直接进入后续的质粒 DNA 																														

提取步骤。

二：从无内毒素的 E.coli 中提取质粒 DNA

4. 先将全部 RNase A 溶液全部加入到柱式质粒 DNAout 溶液 A 中，摇匀后再取用，未用完的柱式质粒 DNAout 溶液 A 最好在 4℃ 保存。
5. 在第 3 步所得菌液中加入 250 uL 柱式质粒 DNAout 溶液 A，用枪头充分吹打使菌体重悬（此步在冰上操作效果更佳）。注意：细胞未充分悬浮会影响后续操作，可以使用漩涡振荡器帮助混匀或使用 Tip 吸头吹打沉淀至完全混匀。
6. 加入 250 uL 柱式质粒 DNAout 溶液 B（如果溶液 B 有沉淀，用前须 37℃ 加热溶解后冷却到室温方可使用），温和反复颠倒混匀 4-6 次，看到溶液变粘即可，然后冰上放置不超过 4-5 分钟。注意：此步处理不能超过 5 分钟，否则 DNA 的碱损伤比较严重。同时千万不要剧烈振荡，否则基因组 DNA 断裂产生的片段非常容易污染质粒 DNA。溶液 B 用后需要将盖拧紧存放，否则空气中的二氧化碳会进入溶液，形成碳酸，中和溶液 B 中的 NaOH，降低其效率）。
7. 加入 350 uL 冰上预冷的柱式质粒 DNAout 溶液 C，反复颠倒混匀 4-6 次，可见白色沉淀物产生，然后冰上放置至少 5 分钟。
8. 最高转速（12,000 rpm 以上）4℃ 离心 5 分钟，小心将上清液转移到离心吸附柱中。由于此时的溶液比重较大，有时候出现沉淀漂浮是正常现象，取上清时避开漂浮的沉淀即可。如果此步的离心在室温进行，更容易出现沉淀物漂浮的现象。
9. 静置 2 分钟以让质粒 DNA 与吸附柱充分结合，此步十分重要。
10. 室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃收集管中的废液。
11. 加入 500 uL 的通用洗柱液，室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，弃收集管中废液。注意：通用洗柱液中含乙醇，用后需要将盖拧紧存放，否则乙醇会挥发。
12. 重复上步 1 次。
13. 室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，甩干残留液体。此步不能省略，否则残留乙醇会影响 DNA 的后续使用（如 DNA 上样时不能沉淀到加样孔中）。
14. 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 30-100 uL 65-80℃ 预热的 DNA 洗脱液 2.0，室温放置 2 分钟。常温的 DNA

	<p>洗脱液 2.0 也可以用于洗脱，但产量稍微有所降低。</p> <p>15. 室温 12,000 rpm 离心 1 分钟，离心管底溶液即质粒 DNA。</p> <p>1. 由于天泽基因的吸附柱结合 DNA 能力较强，如果再加适量 DNA 洗脱液 2.0 到离心吸附柱中，往往还能洗脱下很多质粒 DNA（相当于第一次洗脱的 20-30%），但注意不要使用上步得到的 DNA 洗脱液 2.0 来洗脱。</p>
关联产品	一步式质粒 DNAout(CAT#70303)