

一步法无内毒素质粒 DNAout

One-Step Endo-free Plasmid DNAOUT

使用手册 V3.5

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

产品及特点	本产品是在天泽基因一步式质粒 DNAout2.0 (CAT#:70903) 和液相内毒素清除剂 (CAT#:60607) 两产品的基础上开发出来的无内毒素质粒 DNA 提取试剂。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。此产品的特点是 : 1. 在提取质粒前去除内毒素(存在于细菌表面) ,从源头上避免料内毒素和质粒 DNA 接触 , 从根本上防止了内毒素对质粒 DNA 的污染。 2. 独创的一步法质粒 DNA 提取技术 , 操作快捷 , 只需要 5-10 分钟。 3. 质粒回收率高 , 一次处理后 90%的质粒 DNA 可以回收回来。 4. 得到的质粒 DNA 可以直接用于转染等实验。																																	
规格及成分		<table><tr><th>成份</th><th>编号</th><th>50 次大纸盒包装</th></tr><tr><td>菌体内毒素清除剂</td><td>90901</td><td>200 mL</td></tr><tr><td>溶液 A</td><td>70903A</td><td>50 mL</td></tr><tr><td>吸附柱活化液</td><td>170602</td><td>25 mL</td></tr><tr><td>离心吸附柱 (小提)</td><td>60911</td><td>50 只</td></tr><tr><td>离心吸附柱 (小提) 套管</td><td>90511</td><td>50 只</td></tr><tr><td>通用预洗液</td><td>70903</td><td>50 mL</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></td><td>1 份</td></tr></table>	成份	编号	50 次大纸盒包装	菌体内毒素清除剂	90901	200 mL	溶液 A	70903A	50 mL	吸附柱活化液	170602	25 mL	离心吸附柱 (小提)	60911	50 只	离心吸附柱 (小提) 套管	90511	50 只	通用预洗液	70903	50 mL	通用洗柱液	60408	50 mL	DNA 洗脱液 2.0	111205	10 mL	使用手册		1 份		
成份	编号	50 次大纸盒包装																																
菌体内毒素清除剂	90901	200 mL																																
溶液 A	70903A	50 mL																																
吸附柱活化液	170602	25 mL																																
离心吸附柱 (小提)	60911	50 只																																
离心吸附柱 (小提) 套管	90511	50 只																																
通用预洗液	70903	50 mL																																
通用洗柱液	60408	50 mL																																
DNA 洗脱液 2.0	111205	10 mL																																
使用手册		1 份																																
运输及保存	常温运输及保存(溶液 A 最好 4℃保存) , 有效期一年。																																	
自备试剂	无																																	
使用方法	一: 菌体内毒素的清除 1. 收集 1.5-3 mL <i>E.coli</i> 饱和菌液 , 12000 rpm 离心 1 分钟 , 弃上清 , 得到细菌沉淀。																																	

2. 在沉淀中加入 1 mL 菌体内毒素清除剂，温和混匀后 10000-12000 rpm 离心 1 分钟，弃上清（含内毒素）。
3. 再重复上述操作 3 次，得到的菌体沉淀可以直接进入下面的一步法质粒 DNA 提取操作。

二：一步法质粒 DNA 提取

4. 在菌体沉淀中加入 0.6 mL 溶液 A(用前需摇匀)，充分吹打或振荡 30 秒裂解细菌，直到裂解液变澄清（一般需要半分钟左右）。注:此方法不同于碱裂解法，故可以充分吹打或振荡。
5. 活化离心吸附柱：在离心吸附柱中加入 0.5 mL 吸附柱活化液，套上收集管后室温放置 2 分钟，然后 12,000 rpm 离心 2 分钟，倒弃穿透液，再将吸附柱套上收集管后待用。活化后的离心吸附柱必须立即使用。如果不活化，质粒得率将低 20-40%左右。
6. 将第 4 步得到的裂解液全部转移到离心吸附柱中，室温静置 2 分钟使质粒 DNA 与膜结合。注意：必须静止 2 分钟，否则质粒 DNA 不容易吸附上。
7. 室温 12000-15000 g 离心半分钟，弃穿透液。
8. 在离心吸附柱中加入 0.6 mL 的通用预洗液(注意:是通用预洗液，不是通用洗柱液，不要用错。通用预洗液非常容易产生沉淀，用前需要加热到 60℃左右使之融化，混匀后再用)，室温 12000-15000 g 离心半分钟，弃穿透液。
9. 在离心吸附柱中加入 0.6 mL 的通用洗柱液，室温 12000-15000 g 离心半分钟，弃穿透液。
10. 在离心吸附柱中加入 0.4 mL 的通用洗柱液，室温 12000-15000 g 离心半分钟，弃穿透液。
11. 室温 12000-15000 g 离心半分钟，甩干残留液体。
12. 将离心柱置于一个新的 1.5 mL 自备塑料离心管中，加入 30-100 μ L DNA

	洗脱液 2.0，室温放置 2 分钟。		
	13. 12000-15000 g 离心半分钟，离心管底溶液即无内毒素质粒 DNA。		
疑难解答	可能出现的问题	可能原因	建议解决方法
	质粒 DNA 产量低	抗菌素失活使质粒部分丢失	增加抗菌素的用量
		细菌裂解率低	在加入溶液 A 后细菌沉淀没混匀，可漩涡振荡悬浮液使之充分混匀，不要有块状物。
		细菌培养物生长时间过长或不新鲜	37℃培养时间不要超过 16 小时，不要在分离质粒前长时间存放细菌培养物。
	OD260/280 不到 1.8	细菌量过多	不要使用超过 3mL 饱和菌液
		蛋白质污染	可以增加一次 0.4 mL 通用预洗液的洗涤。
	有 RNA 的污染	通用预洗液沉淀	通用预洗液用前需要加热融化并混匀,否则会有 RNA 污染。