



YALEPIC[®] 超纯质粒 DNA 小量提取试剂盒 (1-5 ml)

YALEPIC[®] Ultrapure Plasmid Mini Isolation Kit (1-5 ml)

产品货号/规格: YC47002-200 (200T) ; (试) YC47002 (5T)

产品保存及运输条件:

常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存。

产品概述

YALEPIC[®] Ultrapure Plasmid Mini Isolation Kit (1-5 ml) 基于优化的碱裂解法裂解细胞, 采用独特的硅基质膜离心吸附柱兼容在高盐、低 pH 状态下高效特异的结合质粒 DNA, 同时有效地去除基因组 DNA、RNA、蛋白等杂质, 操作过程高效便捷。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。质粒产量高达 45 µg, 提取出的质粒纯度高, DNA 可直接用于酶切、测序、PCR、体外转录等下游实验。

产品组分

序号	产品组分	YC47002-200	(试) YC47002
①	PA Buffer	60 ml	1.5 ml
②	PB Buffer (Blue)	60 ml	1.5 ml
③	PM2 Buffer(Yellow)	80 ml	2 ml
④	YS Buffer	50 ml	1.5 ml
⑤	YB Buffer	30 ml	1 ml
⑥	PW Buffer	65 ml	8 ml
⑦	YEB Buffer	30 ml	0.6 ml
⑧	RNase A (10 mg/ml)	600 µl	15 µl
⑨	Pure Columns YN with Collection tubes	200 T	5 T

适用范围

- 1 ~ 5 ml 过夜培养的菌液。
2. 低拷贝质粒建议提升菌液量 ≤ 10 ml, 需按比例扩大 PA、PB、PM2 Buffer 试剂用量。



自备试剂及仪器

无水乙醇；涡旋振荡仪；高速离心机；Nuclease-free 移液器吸头；Nuclease-free 离心管；恒温水浴锅。

实验准备及注意事项

1. 使用本试剂盒前做好防护措施，穿戴实验服、手套、口罩等。使用 Nuclease-free 的移液器吸头和消耗品，试剂使用完后立即盖好瓶盖，避免交叉污染的风险。
2. 首次使用前将 RNaseA 溶液全部加入 **PA Buffer** 中，混匀后 2 ~ 8°C 保存时间 ≤ 6 个月。每次使用前放置室温恢复温度后使用。
3. 首次使用前向 **PW Buffer** 中加入标签指定量的无水乙醇；试用装 (5T) 中 **PW Buffer** 已含无水乙醇，使用后请立即盖好瓶盖防止乙醇挥发。
4. 使用前检查 **PB**、**PM2** 是否出现结晶或沉淀，如有沉淀可 37°C 水浴 5 min。
5. 提取质粒的量和纯度与细菌培养浓度、菌株种类、质粒大小、质粒拷贝数等因素有关。
6. **Pure Columns YN** 置于 2-8°C 可延长保质期。
7. 平衡后的 **Pure Columns YN** 需立即使用，避免放置时间过长影响使用效果。

实验流程

1. 柱平衡：向已装入收集管的吸附柱 (**Pure Columns YN with Collection tubes**) 中加入 200 μ l **YS Buffer**, 13,000 rpm 离心 2 min, 弃去收集管中废液, 将吸附柱重新放回管中。(注: 需当天处理并使用吸附柱)
2. 取 1 ~ 5 ml 过夜培养的菌液加入离心管 (自备) 中, 12,000 rpm 离心 30 s 收集菌体沉淀 (可重复操作收集菌体), 尽量吸弃上清。
3. 向管中加入 250 μ l **无色 PA Buffer** (确认已加入 RNase A), 使用移液器或涡旋振荡器充分混匀, 悬浮菌体沉淀。(注: 若溶液浑浊, 可能由于菌体过多导致裂解不彻底, 应适当减少菌量; 若菌块未彻底混匀, 将会影响裂解效果, 导致提取量和纯度偏低)
4. 向离心管中加入 250 μ l **蓝色 PB Buffer**, 温和地上下颠倒混匀 8~10 次, 使菌体充分裂解, 形成蓝色透亮粘稠溶液, 指示完全裂解, 室温放置不超过 5 min。(注: 不要剧烈振荡, 避免打断基因组 DNA, 造成污染。若溶液并未变得蓝色清亮, 可能是菌量过大, 裂解不彻底, 需减少菌体量)
5. 向离心管中加入 350 μ l **黄色 PM2 Buffer**, 立即上下颠倒混匀 10 次, 溶液颜色由蓝色完全变成黄色, 并出现黄白色絮状或块状沉淀, 指示混合均匀, 中和完全, 室温放置 2 min。
6. 12,000 rpm 离心 5 min, 将溶液转移至已装入收集管中的吸附柱 (**Pure Columns YN with Collection tubes**) 中。12,000 rpm 离心 30 s, 弃去管中废液, 将吸附柱重新放回收集管中。



7. 可选步骤：向吸附柱中加入 130 μ l **YB Buffer**, 13,000 rpm 离心 1 min, 弃去收集管中的废液, 将吸附柱放回收集管中。(注：如果宿主菌是 end A⁺ 宿主菌如 TG1, BL21, HB101, JM, ET12567 等, 这些宿主菌含有大量的核酸酶, 易降解质粒 DNA, 推荐采用此步。如果宿主菌是 end A 宿主菌如 DH5a, TOP10 等, 这步可省略)
8. 向吸附柱中加入 600 μ l **PW Buffer**(使用前检查是否加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min。弃去管中废液, 将吸附柱重新放回收集管中。重复该步骤一次。
9. 将吸附柱重新放回收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 弃去废液。(注：这一步的目的是去除吸附柱中残余的乙醇, 防止残留的乙醇影响后续酶促反应)
10. 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 30 ~ 100 μ l **YEB Buffer** (下游若需做测序或其他对离子敏感的实验, 需使用 ddH₂O 洗脱, 7.0 < PH < 8.5; 低拷贝质粒或 > 10K 的质粒, 需将洗脱液加热至 56°C 后进行洗脱), 室温放置 3 min, 12,000 rpm 离心 2min, 收集质粒 DNA 溶液, - 20°C 长期保存。