



YALEPIC[®] 超纯质粒 DNA 中量提取试剂盒 (1-15ml)

YALEPIC[®] Ultrapure Plasmid Midi Isolation Kit (1-15ml)

产品货号: YC47006 (50T)

产品保存及运输条件: 常温运输; 10 ~ 30°C 室温保存一年。

产品概述

YALEPIC[®] Ultrapure Plasmid Midi Isolation Kit 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 100 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	YC47006
①	PA Buffer	30 ml
②	PB Buffer (Blue)	30 ml
③	ER Buffer	30 ml
④	IP Buffer	25 ml
⑤	YS Buffer	15 ml
⑥	PW Buffer	8 ml
⑦	YEB Buffer	11 ml
⑧	RNase A (10 mg/ml)	600 µl
⑨	Pure Columns YN with Collection tubes	50 T

适用范围

1 ~ 15 ml 过夜培养的菌液。

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 可保存 6 个月。
3. 首次使用前向 **PW Buffer** 中加入标签指定量的无水乙醇。
4. 使用前检查 **PB**、**ER** 是否出现结晶或沉淀，如有沉淀可 37°C 水浴加热溶解。
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. 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。
7. 推荐菌液用量：

菌液	PA	PB (Blue)	ER
≤ 5 ml	250 µl	250 µl	250 µl
5~10 ml	500 µl	500 µl	500 µl
10~15 ml	750 µl	750 µl	750 µl

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 µl **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 ~ 15 ml 过夜培养的菌液加入离心管（自备）中，13,000 rpm 离心 1 min 收集菌体沉淀（可重复操作收集菌体），彻底吸弃上清。
3. 以 5 ~ 10 ml 菌液为例，向离心管中加入 500 µl **PA Buffer**（确认已加入 **RNase A**），涡旋振荡器充分混匀，悬浮细菌沉淀。（注：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 500 µl 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 500 µl **ER Buffer**，立即上下颠倒混匀 10 次，此时溶液由蓝色变成透明，并出现白色絮状/块状沉淀，室温放置 5 min。（注：加入 **ER Buffer** 后应立即混匀，避免产生局部沉淀）
6. 13,000 rpm 离心 5 min，将上清转移至新的离心管（自备）中，再继续加入上清液 0.3 倍体积的 **IP Buffer**，上下颠倒混匀。将溶液转移至已装入收集管中的吸附柱（**Pure Columns YN with Collection tubes**）中。13,000 rpm 离心 1 min，弃去收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（注：过滤柱的最大容积为 750 µl，若溶液量多可分批过柱）
7. 向吸附柱中加入 750 µl **PW Buffer**（使用前检查是否加入无水乙醇），13,000 rpm 离心 1 min。
8. 将吸附柱重新放回收集管中，13,000 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的酶促反应）



9. 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 100 ~ 200 μ l **YEB Buffer**, 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。(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)