



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。

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. **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。
8. 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)

本产品仅供研究使用, 请勿用于临床诊断