



Toll-free:400-611-2007

Order:010-62617225 62979301

Email:zomanbio@126.com

Http://www.zomanbio.com



版本号:2025-12-17

# A型无内毒素质粒小提中量试剂盒

Endotoxin-Free Plasmid Middle Prep Kit(Type A)

目录号: ZP122

试剂盒组成	ZP122-1 50次	ZP122-2 100次	ZP122-3 200次
RNaseA (10 mg/ml)	300 $\mu$ l	600ul	1.2 ml
平衡液ZBL	15ml	30ml	60ml
溶液1	30 ml	60 ml	120 ml
溶液2	30 ml	60 ml	120 ml
溶液4	30 ml	60 ml	120 ml
漂洗液W2	15 ml	30 ml	2 $\times$ 30 ml
洗脱缓冲液TER	15 ml	30 ml	60 ml
去内毒素溶液ZER	10 ml	20 ml	40 ml
吸附柱	50 个	100 个	200 个
收集管 (2ml)	50 个	100 个	200 个
说明书	1 份	1 份	1 份

客户自备: 1、干净的5ml管; 2、无内毒素ddH<sub>2</sub>O; 3、无水乙醇和异丙醇分析纯即可; 4、耗材应使用盒装无内毒素的。

## ■ 储存条件

本试剂盒在室温(15-25℃)干燥条件下,可保存1年;更长时间的保存可置于2-8℃。2-8℃保存条件下,若溶液产生沉淀,应在使用前置于37℃下溶解沉淀。单独包装的RNaseA在-20℃可稳定保存一年以上。第一次使用前将RNase A加入溶液1中,加入RNase A后的溶液1,可室温稳定保存半年以上(2025年优化产品配方)。

实验室使用,仅用于科研

北京庄盟国际生物基因科技有限公司  
Beijing Zoman Biotechnology Co.,Ltd.



## ■ 产品简介

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞，通过离心吸附柱在高盐状态下特异性地结合溶液中的质粒DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，可高效、专一吸附DNA，同时采用特殊的溶液4和去内毒素溶液，可有效的去除内毒素、蛋白等杂质。本试剂盒可从5-25 ml大肠杆菌LB (Luria-Bertani) 培养液中，快速提取多至100 µg 高纯度的高拷贝质粒DNA，提取率达85-90 %。

使用本试剂盒提取的质粒DNA可适用于转染多种细胞及各种常规操作，包括酶切、PCR、测序、连接等实验。

## ■ 注意事项：请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 溶液1在使用前先加入RNase A（**将试剂盒中提供的RNase A全部加入**），混匀，置于2-8℃保存。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在漂洗液W2中加入无水乙醇。
3. 使用前先检查溶液2和溶液4是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀现象，可在37℃水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。
4. 注意不要直接接触平衡液ZBL、溶液2和溶液4，溶液使用后应立即盖紧盖子。
5. 使用过滤柱时请将推柄小心缓慢地从过滤管中抽出，避免滤膜因压力而松动。
6. 提取的质粒量与细菌培养浓度、质粒拷贝数等因素有关。如果所提质粒为低拷贝质粒或大于20kb的大质粒，应加大菌体使用量，同时按比例增加溶液1、2、4的用量；洗脱缓冲液推荐在65~70℃水浴中预热。**可以适当延长吸附和洗脱时间，以提高提取效率。**

## ■ 操作步骤

- 1. 柱平衡处理:** 向吸附柱中加入250ul平衡液ZBL, 12,000rpm( $\sim 13,400 \times g$ )离心1min, 倒掉收集管中废液, 将吸附柱重新放回收集管中。(处理过的柱子尽量在1小时内使用, 如果处理时间过长可再次加平衡液ZBL处理)

注: 1、此步骤也可在第5步并行操作离心, 即提取液加入吸附柱前平衡柱子即可。

2、柱平衡可充分激活硅基质膜, 提高得率; 平衡好的吸附柱放置时间超过1小时, 效果将有所下降, 建议再次处理后使用, 但不建议处理2次以上。

- 2. 收集菌体:** 取菌液5-25ml, 加入离心管, 12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 离心1min, 收集沉淀, 或者其他转速条件收集亦可。(菌液体积大于离心管, 可以多次离心收集)。

- 3. 重悬菌体:** 向留有菌体沉淀的离心管中加入500ul溶液1 (请先检查是否已加入RNaseA), 使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀。(建议彻底悬浮的菌体最好收集在2ml离心管中, 以方便后续添加其他试剂与离心。)

注意: 如果有未彻底混匀的菌块, 会影响裂解, 导致提取量和纯度偏低

- 4. 裂解菌体:** 向离心管中加入500ul溶液2, 温和地上下翻转3—5次, 室温静置1-2min 使菌体充分裂解。

注意: 温和地混合, 不要剧震荡, 以免造成所得产物有基因组DNA污染。菌液应变得均一粘稠表明已充分裂解; 如果未变得均一, 可能由于菌体过多, 裂解不彻底, 应适当减少菌体量。

- 5. 沉淀除杂:** 向离心管中加入500ul溶液4, 立即温和地上下翻转3-5次, 充分混匀, 即出现白色絮状沉淀, 且沉淀颗粒不大于3mm, 如颗粒大可逐渐增加摇振力度。12,000 rpm ( $\sim 13,400 \times g$ ) 室温离心 10min (离心机温度应调节在20℃以上, 不可以低温), 此时在离心管底部形成沉淀。

注意: a、溶液4加入后应立即混合, 避免产生局部沉淀。

b、低温离心时, 可能会出现乳白上清, 可37℃温浴2-3min后重新常温离心沉淀。



6. 将上清液转移到一个5ml管中（注意尽量不要吸到杂质），向其中加入150 $\mu$ l去内毒素溶液ZER,上下颠倒混匀至溶液为乳白色悬浊液。

注：溶液ZER粘稠，室温较低时，建议40-50°C水浴锅温育2-3min，便于吸取。

7. 加入该乳浊液0.3倍体积的异丙醇，颠倒混匀，至溶液转变为澄清透明状态。

注：标准操作下0.3倍异丙醇，计算结果为加入500 $\mu$ l即可。

8. 上柱吸附：吸取上一步的混合液到吸附柱中（单次加入量不超过750 $\mu$ l），室温12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心30s，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中（分多次将5ml管中的液体全部上柱）。

9. 漂洗：向吸附柱中加入600 $\mu$ l漂洗液W2（请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 $\times$ g)离心10s，弃掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。重复此步骤一次。

10. 空离：将吸附柱放入收集管中, 12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心1分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除。

11. 洗脱：将吸附柱置于一个干净的离心管中，向吸附膜的中间滴加50-150  $\mu$ l洗脱缓冲液TER（无内毒素的TE缓冲液），室温放置1min，12,000 rpm (~13,400 $\times$ g) 离心1分钟将质粒溶液收集到离心管中。为获得高浓度的质粒，务必采用二次洗脱，将洗脱下来的产物液，再次加回到柱子中洗脱，即重复步骤11。

注意：洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用无内毒素的水做洗脱液，应保证其pH值在7.5-8.5范围内(可以用NaOH将水的pH值调到此范围)，pH值低于7.0会降低洗脱效率。且DNA产物应保存在-20°C，以防DNA降解。