

Monad

MonPure™ Endo-Free Plasmid Maxi Kit

货号 ■ RN01003S

规格 ■ 10 Preps

产品组成

	RN01003S (10 Preps)
Buffer P1	125 ml
Buffer P2	125 ml
Buffer E3	125 ml
Buffer BL	30 ml
Buffer PW (concentrate)	50 ml
Endo-Free Buffer EB	30 ml
RNase A (10 mg/ml)	2 × 1 ml
Plungers	2 × 5/pk
Endo-Remove Filter	2 × 5/pk
Spin Columns & Collection Tubes	2 × 5/pk
Centrifuge Tubes (50 ml)	2 × 5/pk
说明书	1 份

保存条件：室温

莫纳生物科技有限公司
Monad Biotech Co., Ltd.

Version 1.0



400-820-2141

support@monadbiotech.com
www.monadbiotech.com

产品描述

莫纳无内毒素质粒大提试剂盒提供了一种简单、快捷、高效提取无内毒素质粒的方法，在碱裂解法基础上，采用独特的硅基质膜吸附技术（高效专一地结合质粒 DNA）与去内毒素缓冲液和除内毒素过滤器，有效去除内毒素、基因组 DNA、RNA、蛋白等杂质。使用本试剂盒每次可处理 100-300 ml 菌液，整个提取过程只需 50 分钟，即可获得 2 mg 转染级质粒 DNA，也可用于 DNA 测序、PCR、体外转录、酶切等分子生物学实验。

自备试剂

无水乙醇、异丙醇

实验步骤

首次使用

1. 按照试剂瓶标签的说明，将 **RNase A** 溶液全部加入到 **Buffer P1** 中，混匀，做好标记（瓶顶签打√），置于 2~8°C 可保存 6 个月，使用前需在室温中放置一段时间，恢复至室温后使用。

2. 按照试剂瓶标签的说明，在 **Buffer PW** 中加入相应体积的**无水乙醇**，并做好标记（瓶顶签打√）。

非首次使用

1. 取 150 ml 过夜培养的菌液，加入离心管（自备）中，12,000×g 离心 2~3 分钟收集细菌，弃尽上清。

2. 向离心管中加入 12 ml Buffer P1，使用移液器吸打或涡旋振荡至菌体彻底悬浮。

注意：如果菌块未彻底混匀，将会影响裂解效果，造成提取量和纯度偏低。

3. 向离心管中加入 12 ml Buffer P2，立即温和上下颠倒混匀 8~10 次，充分混匀，室温放置 3~5 分钟，此时溶液应变得清亮粘稠。

注意：温和混匀，避免剧烈震荡；如果溶液未变得清亮，应减少步骤 3 的菌体收集量，避免菌量过大导致裂解不彻底。

4. 向离心管中加入 12 ml Buffer E3，立即温和上下颠倒混匀 8~10 次，此时出现白色絮状沉淀，室温放置 5 分钟。

5. 12,000×g 离心 10 分钟，小心吸取上清，全部倒入除内毒素过滤器（Endo-Remove Filter）中，慢慢推动推柄（Plungers）过滤，滤液收集在干净的 50 ml 离心管（自备）中。

注意：Buffer E3 加入后应立即混匀，避免产生局部沉淀。

6. 向装有滤液的离心管中加入 0.3 倍滤液体积的异丙醇，上下颠倒混匀。

注意：加入异丙醇过多容易导致 RNA 污染。

7. 柱平衡：向已装入收集管中的吸附柱（Spin Columns & Collection Tubes）中加入 2 ml Buffer BL，12,000×g 离心 2 分钟，倒掉收集管中的液体，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：平衡后的吸附柱最好立即使用，避免放置时间过长影响使用效果。

8. 将步骤 6 混匀的滤液与异丙醇溶液转移到平衡好的吸附柱（已装入收集管）中，6,000~12,000×g 离心 2 分钟，倒掉收集管中的液体，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：吸附柱的最大容积为 15 ml，所以第 9 步中所得溶液需分多次过柱。如果离心机转子倾角较大，建议加入吸附柱的溶液体积不超过 10 ml，以防发生漏液现象。

9. 向吸附柱中加入 10 ml Buffer PW，6,000~12,000×g 离心 2 分钟，倒掉收集管中的液体，将吸附柱重新放回收集管中。

10. 重复步骤 9。

11. 将空吸附柱和收集管放入离心机，12,000×g 离心 5 分钟，倒掉收集管中的液体；将吸附柱室温放置数分钟，彻底除去残留的 Buffer PW。

注意：残留 Buffer PW 中含有的乙醇会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等），此步骤不可省。

12. 取出吸附柱，置于一个新的离心管中，向吸附膜的中间位置悬空加入 1~3 ml Endo-Free Buffer EB，室温放置 2~5 分钟，12,000×g 离心 5 分钟，离心管中收集的即为无内毒素质粒溶液，置于 -20°C 长期保存。

注意：① 为了增加质粒的回收效率，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置 2~5 分钟，12,000×g 离心 5 分钟，将质粒溶液收集到离心管中。

② 质粒拷贝数较低或 > 10 kb 时，Endo-Free Buffer EB 在 65~70°C 水浴预热，可以增加提取效率。

注意事项

1. 使用前请先检查 Buffer P2 和 Buffer E3 是否出现结晶或沉淀，如有结晶或沉淀现象，可在 37°C 水浴几分钟，即可恢复澄清。

2. 注意 Buffer P2 和 Buffer E3 含有刺激性物质，请戴手套操作，使用后应立即盖紧盖子。

3. 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。