



增强型无内毒素质粒小量提取试剂盒说明书

货号：WGD-X-3100003

产品介绍

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞，通过离心吸附柱特异性地吸附 DNA。优化的裂解液能使离心吸附柱在短时间内高效、特异性吸附质粒 DNA，且最大限度地除去蛋白质、多糖和其它非核酸类物质。本试剂盒采用特制的内毒素去除试剂，得到的质粒 DNA 纯度高，内毒素水平低，提取产物适用于酶切、PCR、连接、测序、转染等一系列分子生物学实验。

产品目录

产品名称	规格
增强型无内毒素质粒小量提取试剂盒	50 rxns
增强型无内毒素质粒小量提取试剂盒	200 rxns

产品组成

组分	50 rxns	200 rxns
重悬液 P1	15 mL	60 mL
裂解液 P2	15 mL	60 mL
中和液 MP3	15 mL	60 mL
去内毒素液 P4	6 mL	24 mL
漂洗液 EW	35 mL	140 mL
漂洗液 PW	15 mL	50 mL
洗脱液 EB	15 mL	30 mL
RNase A（10 mg/mL）	150 μL	600 μL
吸附柱 E8	50 个	200 个
收集管	50 个	200 个

产品用途

用于 1 ~ 5 mL 菌液质粒提取，尤其是对内毒素限度有要求的质粒提取。

产品特点

快速、内毒素含量极低。

注意事项

- 重悬液 P1 在使用前需加入 RNase A（将试剂盒内提供的 RNase A 全部加入），充分混匀，置于 2 ~ 8℃ 保存。
- 首次使用前请按漂洗液 PW 瓶子标签所示，加入对应量的无水乙醇，混匀，室温保存。
- 使用前请先检查裂解液 P2 是否出现浑浊，如有浑浊现象，可 37℃ 条件下温浴至溶液澄清，混匀后再使用。
- 注意不要直接接触裂解液 P2、中和液 MP3、去内毒素液 P4、漂洗液 EW，使用时应戴手套，使用后应立即盖紧盖子。
- 提取的质粒得率和质量与宿主菌的种类、质粒拷贝数、稳定性等因素有关。
- 当提取低拷贝质粒或质粒大于 10kb 时，可适当提高菌液量，同时按比例增加试剂 P1、P2、MP3 使用量。



7. 操作过程中需要自备若干无内毒素的 2 mL 离心管、无水乙醇、异丙醇。

操作步骤

1. 取 1 ~ 5 mL 过夜培养的大肠杆菌菌液，加入离心管中，12,000 ×g 离心 1 min，尽量吸除上清。

注意：菌体量以能够充分裂解为佳，过多的菌体裂解不充分会降低质粒的提取效率。

2. 向留有菌体沉淀的离心管内加入 150 μL 重悬液 P1（请检查是否加入 RNase A），使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮菌体沉淀。

注意：彻底重悬菌体沉淀对产量很关键，重悬后应看不到菌体团块，若存在团块，会影响裂解过程，导致得率降低。

3. 向离心管中加入 150 μL 裂解液 P2（气温低应先温浴），轻柔温和地上下翻转 6 ~ 8 次，使菌体充分裂解。

注意：此步骤应温和地混匀，剧烈振荡或涡旋会引起基因组 DNA 断裂，造成污染。此时菌液应该变得清亮粘稠，表明细菌裂解充分。若菌液未变清亮，可能由于菌体过多导致裂解液不彻底，应适当减少菌体量。

4. 向离心管中加入 150 μL 中和液 MP3，立即轻柔地上下颠倒混匀 6 ~ 8 次，12,000 ×g 离心 10 min。

注意：加入中和液 MP3 后应立即混匀，避免产生局部沉淀。若上清液中含有大量微小白色沉淀，可适当延长离心时间。

5. 将上一步的上清液转移到干净的离心管中（尽量不要吸取沉淀），加入 60 μL 去内毒素液 P4，用力颠倒混匀，直至液体均匀分散，向混合液中加入 0.3 倍体积的异丙醇，上下颠倒混匀至溶液澄清。

6. 将吸附柱 E8 置于收集管中，吸取上一步骤的溶液转移到吸附柱 E8 中（溶液体积大于 700 μL 时，可分成多次加入柱中）。12,000 ×g 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，把吸附柱 E8 重新放回收集管中。

7. 向吸附柱 E8 中加入 600 μL 漂洗液 EW，12,000 ×g 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，把吸附柱 E8 重新放回收集管中。

8. 向吸附柱 E8 中加入 700 μL 漂洗液 PW（请先检查是否加入无水乙醇），12,000 ×g 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，把吸附柱 E8 重新放回收集管中。

9. 重复操作步骤 8。

10. 12,000 ×g 离心 2 min，去除吸附柱 E8 中残余的漂洗液 PW。

注意：漂洗液中的乙醇残留会影响后续的酶反应（酶切或 PCR），故建议打开吸附柱盖子，置于室温放置 5 分钟或 55℃烘箱静置 2 min，使残留的乙醇彻底挥发干净。

11. 将吸附柱 E8 置于一个新的 1.5 mL（或 2 mL）离心管中，加入 50 ~ 100 μL 的洗脱液 EB，室温静置 1 min，12,000 ×g 离心 1 min 洗脱 DNA，提取到的质粒 DNA 于 -20℃保存。

注意：洗脱液体积不应少于 50 μL，体积过小影响回收效率。若需获得最高产量，将洗脱液 EB 预热至 55℃提高洗脱效率，或将得到的离心液重新加入到吸附柱 E8 中，再次 12,000 ×g 离心 1 min，进行二次洗脱。

储存及运输条件

室温（15 ~ 30℃）条件下可保存 12 个月。单独包装的 RNase A 在室温可保存 12 个月，加入 RNase A 的重悬液 P1 应置于 2 ~ 8℃保存，可稳定保存 6 个月。

常温（15 ~ 30℃）运输。

常见问题及解决方法

常见问题	可能原因	解决方法
质粒产率低	菌液量不够	增加菌液用量。
	菌液浓度不够	延长摇菌时间，建议时间为 12 ~ 16 h。
	宿主菌老化	1.缩短摇菌时间，建议时间为 12 ~ 16 h； 2.选择活性高的宿主菌。
	质粒拷贝低	更换为高拷贝质粒或提高菌液量。
	宿主菌不适合	选择合适的宿主菌。
	漂洗液中未加乙醇	按照要求添加乙醇。
	裂解不充分	1.按照说明书操作及要求，逐步操作；

修订日期：2026-08-13



质粒纯度低		2.减少菌体用量。
	洗脱不充分	1.将洗脱液加热至 55℃； 2.确保洗脱液滴加到吸附柱 E8 膜中央； 3.延长洗脱放置时间。
	RNA 残留	1.确保重悬液 P1 置于 4℃保存； 2.减少菌体用量；减少异丙醇。
	基因组 DNA 残留	加入裂解液 P2 后，需轻柔混匀，避免剧烈振荡。
	盐离子残留	加入漂洗液后，颠倒混匀 2~3 次，适当静置 1~2 min。