



StarPure Endo-free Plasmid Midi Kit

StarPure 无内毒素质粒小提中量试剂盒

版本号: V251201

货号: D213

保存: 常温, 其中 RNase A 于 4°C 保存

运输: 常温, 其中 RNase A 于低温运输

货号	规格
D213-01	50 rxn

【产品概述】

本试剂盒采用碱裂解法裂解细胞, 通过离心吸附柱在高盐条件下特异地结合溶液中的质粒DNA。试剂盒采用的离心吸附柱是本发明的新品, 可高效结合质粒DNA; 同时采用过滤柱, 可有效去除内毒素、蛋白等杂质。整个操作过程仅需1 h, 方便快捷。本试剂盒适用于提取5-15 ml过夜培养的大肠杆菌, 质粒提取得率和宿主菌种类、质粒的拷贝数、培养条件等因素有关。使用本试剂盒提取的质粒DNA可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、测序、连接、转化和转染多种细胞等实验。

【产品组分】

组分货号	组分名称	D213-01	注意事项
ZD2000	Buffer BL	30 ml	请使用当天用 Buffer BL 处理过的吸附柱
ZD2019	Buffer P1	30 ml	初次使用前请按瓶标说明加入 RNase A, 4°C 保存
ZD2002	Buffer S2	30 ml	
ZD2212	Buffer P3	30 ml	
ZD2005	Buffer WB	22 ml	初次使用前请按瓶标说明加入 4 倍体积无水乙醇
ZD2007	Buffer EB	20 ml	
ZD2008	RNase A (10mg/ml)	300 µl	
ZD2213	Filtration Columns-CF	50 个	
ZD2214	Spin Columns-CF	50 个	
ZD2215	2ml Collection Tubes	100 个	
ZP1008	1.5ml Centrifuge Tubes (DNase/RNase-free)	50 个	

【保存条件】

该试剂盒置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存 24 个月。单独包装的 RNase A 在室温可稳定保存 12 个月, 更长时间保存可置于 4°C。将 RNase A 加入 Buffer P1 中, 于 4°C 保存, 可稳定保存 12 个月。

【注意事项】

- 第一次使用前, 应将全部 RNase A 加入 Buffer P1 混匀, 加入 RNase A 后的 Buffer P1 需在 4°C 保存。
- 第一次使用前, Buffer WB 应按照标签说明加入无水乙醇。
- 使用前先检查 Buffer BL、Buffer S2 和 Buffer P3 是否出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀现象, 可在 37°C 水浴中加热几分钟, 即可恢复澄清。
- 注意皮肤不能直接接触 Buffer S2 和 Buffer P3, 使用后应立即盖紧盖子。
- 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 10 kb 的大质粒, 应加大菌体使用量, 同时按比例增加 P1、S2 和 P3 的用量; Buffer EB 推荐在 65-70°C 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: 向 Spin Columns-CF (Spin Columns-CF with 2ml Collection Tubes) 中加入 500 μ l Buffer BL, 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉 Collection Tubes 中的废液, 将 Spin Columns-CF 重新放回 2ml Collection Tubes 中。
注: 用 Buffer BL 处理 Spin Columns-CF 可激活硅基膜, 提高得率, 用 Buffer BL 处理的柱子最好当天使用。
2. 取 5-15 ml 过夜培养的菌液加入无菌离心管 (自备) 中, 室温 12,000 rpm 离心 1 min 收集细菌, 尽量吸除上清。
注: 菌液较多时可以通过几次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中, 菌液量以能够充分裂解为佳, 菌液过多会导致裂解不充分从而降低质粒的提取效率。
3. 向留有菌体沉淀的离心管中 (自备) 中加入 500 μ l Buffer P1 (请先检查是否已加入 RNase A), 使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌细胞沉淀。
注: 请务必彻底悬浮细菌沉淀, 如果有未彻底混匀的菌块, 会影响裂解效果, 导致提取量和纯度偏低。对于低拷贝质粒, 加大菌体用量的同时按比例增加 P1、S2、P3 的用量。
4. 向离心管中加入 500 μ l Buffer S2, 立即温和地上下翻转 6-8 次使菌体充分裂解。
注: 温和混匀, 不要剧烈震荡, 以免污染基因组 DNA。此时菌液应变得清亮粘稠, 所用时间不应超过 5 min。如果未变得清亮, 可能由于菌体过多, 裂解不彻底, 应减少菌体量。
5. 向离心管中加入 500 μ l Buffer P3, 立即温和地上下翻转 6-8 次充分混匀, 此时溶液出现白色分散絮状沉淀, 然后室温放置 10 min 左右。12,000 rpm 离心 10 min, 使白色沉淀离至管底。
注: 加入 Buffer P3 后应立即混匀, 避免产生局部沉淀。
6. 将上一步的上清液分次加入 Filtration Columns-CF (Filtration Columns-CF with 2ml Collection Tubes), 室温 12,000 rpm 离心 2 min, 滤液收集到新的 2ml 离心管中 (自备)。
注: 离心后上清液加入 Filtration Columns-CF 中的溶液有少量白色沉淀不会影响过滤; Filtration Columns-CF 的最大上样量为 700 μ l, 需要分次过柱。
7. 向滤液中加入 0.3 倍滤液体积的异丙醇 (加入异丙醇过多容易导致 RNA 污染), 上下颠倒混匀后转移到 Spin Columns-CF 中 (Spin Columns-CF with 2ml Collection Tubes)。
注: 过滤后滤液会损失, 根据损失的不同请加入不同体积的异丙醇; Spin Columns-CF 的最大上样量为 700 μ l, 需要分次过柱。
8. 室温 12,000 rpm 离心 1 min, 倒掉收集管中的废液, 将吸附柱重新放回收集管中。
9. 向 Spin Columns-CF 中加入 600 μ l Buffer WB (请检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 1 min, 弃掉收集管中的废液, 将 Spin Columns-CF 重新放回 2ml Collection Tubes 中。
10. 重复操作步骤 9 两次, 共漂洗三次。
11. 将 Spin Columns-CF 重新放回 2ml Collection Tubes 中, 12,000 rpm 离心 2 min, 目的是将 Spin Columns-CF 中残余的 Buffer WB 去除。而后打开 Spin Columns-CF 盖子室温放置数分钟, 以彻底晾干。
注: Buffer WB 中乙醇的残留会影响后续的酶促反应 (酶切、PCR 等) 实验, 也会影响洗脱效率。
12. 将 Spin Columns-CF 置于一个干净的 1.5 ml Centrifuge Tubes 中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 100-300 μ l Buffer EB, 室温放置 2 min, 12,000 rpm 离心 1 min 将质粒溶液收集到离心管中。
注: 为了增加质粒的回收效率, 可将得到的溶液重新加入到 Spin Columns-CF 中, 重复步骤 12。Buffer EB 的 pH 值对于洗脱效率有很大影响。若用去离子水做 Buffer EB 应保证其 pH 值 7.5-8.0 范围内, pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。Buffer EB 体积不少于 100 μ l, 体积过小影响回收效率。DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C, 以防 DNA 降解。

【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时, 本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。在所有情况下, 本公司对此产品所承担的责任, 仅限于此产品的价值本身。