



StarPure Endo-free Plasmid Maxi Kit

StarPure 无内毒素质粒大提试剂盒

版本号: V250102

货号: D210

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
D210-01	10 rxn

【产品概述】

本试剂盒采用独特的玻璃纤维素膜吸附技术, 高效专一地结合质粒DNA。同时采用精心优化的Buffer P3和Filtration, 可有效的去除内毒素、蛋白等杂质; 整个提取过程仅需1 h, 方便快捷。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。

推荐每次菌液使用量: 高拷贝质粒推荐使用量为 100 ml, 得率一般在 500-1500 µg 左右; 低拷贝质粒推荐使用量为 200 ml, 得率一般在 200-600 µg 左右。

【产品组分】

组分货号	组分名称	D210-01	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	100 ml	初次使用前请按瓶标说明加入 RNase A, 4°C 保存
ZD2002	Buffer S2	100 ml	
ZD2212	Buffer P3	100 ml	
ZD2005	Buffer WB	22 ml×2	初次使用前请按瓶标说明加入 4 倍体积无水乙醇
ZD2007	Buffer EB	30 ml	
ZD2008	RNase A (10mg/ml)	1 ml	
ZD2205	Spin Columns with Collection Tubes-CE	10 套	
ZD2206	Collection Tubes	10 个	
ZD2207	Filtration	10 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】

1. 在使用前将全部 RNase A 加入 Buffer P1, 混匀, 加入 RNase A 后的 Buffer P1 置于 4°C 保存。
2. 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。
3. 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。
4. 使用 Filtration 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。
5. 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：向离心吸附柱中加入 2.5 ml Buffer BL，8,000 rpm 离心 2 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的吸附柱）
2. 取 100 ml（根据培养菌体的浓度选择合适的量，低拷贝推荐用 200 ml）过夜培养的菌液加入无菌离心管（自备）中，室温 8,000 rpm 离心 3 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. 尽量吸除上清，为确保上清液全部吸取，请用干净的吸水纸吸去管壁上的液体。
4. 向留有菌体沉淀的离心管中加入 8 ml 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。
5. 向离心管中加入 8 ml Buffer S2，立即温和地上下翻转 6-8 次，使菌体充分裂解，室温放置不超过 5 min。
注：温和混匀，不要剧烈震荡，以免有基因组 DNA 污染。此时菌液应变得清亮粘稠，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。
6. 向离心管中加入 8 ml Buffer P3，立即温和地上下翻转 6-8 次，充分混匀，至溶液出现白色分散絮状沉淀，然后室温放置 10 min 左右。8,000 rpm 离心 10 min，使白色沉淀离至管底，将全部溶液小心倒入 Filtration 中（请避免倒入大量沉淀而阻塞 Filtration），慢慢推动推柄过滤，滤液收集在干净的 50 ml 的离心管中（自备）。
注：加入 Buffer P3 后应立即混匀，避免产生局部沉淀。离心后倒入 Filtration 中的溶液有少量白色沉淀不会影响过滤。如果菌体过多 (>100 ml)，推荐延长离心时间至 20-30 min。
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。
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。
8. 将上述混匀物分批转移到离心吸附柱中，室温 8,000 rpm 离心 2 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
注：离心吸附柱的最大容积为 10 ml，所以需要分三次过柱，三次过柱均按照操作步骤 8 进行。
9. 向吸附柱中加入 10 ml Buffer WB（请检查是否已加入无水乙醇），8,000 rpm 离心 2 min，弃掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。
10. 重复操作步骤 9 一次。
11. 向吸附柱中加入 3 ml 无水乙醇，室温 8,000 rpm 离心 2 min，倒掉废液。
12. 将吸附柱重新放回收集管中，8,000 rpm 离心 5 min，目的是将吸附柱中残余的乙醇尽量去除。用枪头吸除内圈压环和柱壁之间可能残留的乙醇，打开盖子室温晾干 3-5 min。
注：乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）实验并影响洗脱效率。
13. 将吸附柱置于一个干净的 50 ml Collection Tube 中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 1-2 ml Buffer EB（EB 可在 65-70°C 水浴中预热 3-5 min，以提高洗脱效率），室温放置 5 min，然后室温 8,000 rpm 离心 2 min。将 50 ml 离心管中 Buffer EB 全部转入一个干净的 1.5 ml 无菌离心管（自备）中，-20°C 保存。
注：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，重复步骤 13。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 用量的多少主要是依据质粒的拷贝数以及实验所需要的浓度来确定。建议 Buffer EB 体积不少于 1 ml，体积小影响回收效率。DNA 产物应保存在 -20°C，以防降解。

【补充说明】

如果需要更高浓度的质粒，可按如下步骤操作：

1. 每 1 ml Buffer EB 加入 1.42 ml 异丙醇以及 0.42 ml 5 M NaCl（客户自备）混匀，室温放置 5 min，8,000 rpm 离心 10 min，小心弃上清。
2. 加入 0.5 ml 的 70%乙醇洗涤沉淀，室温 8,000 rpm 离心 5 min，小心弃乙醇。
3. 重复补充说明 2。
4. 空气中干燥沉淀约 5-10 min，根据需要用适当体积的 Buffer EB 溶解沉淀。

【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。