



StarPure Endo-free Plasmid Midi Kit

StarPure 无内毒素质粒小提中量试剂盒

版本号: V250103

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公司的新品, 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：向离心吸附柱中加入 500 μ l Buffer BL，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。
注：用平衡液处理吸附柱可激活硅基膜，提高得率，用平衡液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。
6. 将上一步的上清液分次加入 Filtration Columns-CF（过滤柱放入收集管中），室温 12,000 rpm 离心 2 min，滤液收集到干净的 2 ml 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。离心后加入 Filtration Columns-CF 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），上下颠倒混匀后转移到 Spin Columns-CF 中（吸附柱放入收集管中）。
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。
注：Spin Columns-CF 的最大上样量为 700 μ l，需要分次过柱，每次均按以上条件操作。
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，将吸附柱重新放回收集管中。
10. 重复操作步骤 9 二次，共漂洗三次。
11. 将吸附柱重新放回收集管中，12,000 rpm 离心 2 min，目的是将吸附柱中残余的 Buffer WB 去除。而后打开吸附柱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. 将吸附柱置于一个干净的离心管中，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吸附柱中，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。