



StarPure Endo-free Pro Plasmid Maxi Kit

StarPure 无内毒素超纯质粒大提试剂盒（增强版）

版本号: V260702

货号: D211

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
D211-01	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。同时采用独特的内毒素沉淀技术和精心优化的去内毒素Buffer ER和过滤器Filtration, 可特异的去除内毒素, 并有效去除蛋白等杂质。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纯度高, 应用广泛, 可适用于各种常规实验和高端实验, 包括酶切、PCR、测序、连接、转化等常规实验及基因治疗、细胞显微注射、基因沉默、转染等高端实验, 适合包括内毒素敏感细胞在内的绝大多数细胞的转染。

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 300-1500 µg 左右; 低拷贝质粒推荐使用量为 200 ml, 得率一般在 100-200 µg 左右。

【产品组分】

组分货号	组分名称	D211-01	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	
ZD2211	Buffer ER	40 ml	
ZD2217	Buffer PD	100 ml	
ZD2005TZ	Buffer WB3	22 ml×2	初次使用前请按瓶标说明加入 88 ml 无水乙醇
ZD2007	Buffer EB	30 ml	
ZD2008	RNase A (10 mg/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、Buffer P3、Buffer ER 和 Buffer PD, 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)。
6. 提取时, 推荐使用无内毒素的实验耗材。



【操作步骤】

- 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）
- 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：菌液较多时可通过几次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中，菌液量能够充分裂解为佳，菌液过多会导致裂解不充分从而降低质粒提取效率。
- 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。
- 向留有菌体沉淀的离心管中加入 10 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。
- 向离心管中加入 10 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 5 min。
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，如未变得清亮，可能由于菌体过多，裂解不彻底，应减少菌体量。
- 向离心管中加入 10 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。如果离心后倒入 Filtration 中的溶液有白色沉淀也不会影响过滤。如果菌体过多（>100 ml），推荐延长离心时间至 20-30 min。
- 向滤液中加入 3 ml Buffer ER，充分颠倒混匀，冰浴 20 min，42℃ 水浴 5 min。
- 高拷贝质粒向滤液中加入 0.3 倍滤液体积的异丙醇，低拷贝质粒向滤液中加入 0.2 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。
- 将上述混匀物转移到离心吸附柱中（吸附柱放入 50 ml 收集管中），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，所以需要分四次过柱，四次过柱均按照操作步骤 9 进行。
- 向吸附柱中加入 10 ml Buffer PD，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。
- 向吸附柱中加入 10 ml Buffer WB3（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。
- 重复操作步骤 11 一次。
- 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 Buffer WB3 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：Buffer WB3 中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。
- 将吸附柱置于一个干净的 50 ml Collection Tubes 中，向吸附膜的中间部位悬空滴加 1-2 ml Buffer EB（EB 需在 65-70℃ 水浴中预热 3-5 min），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℃ 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 14。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℃，以防 DNA 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：

- 每 1 ml Buffer EB 加入 1.42 ml 异丙醇以及 0.42 ml 5M 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。
- 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。
- 重复补充说明 2。
- 空气中干燥沉淀约 5-10 min，根据需要适当用适当体积的 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。