

SteadyPure 质粒DNA提取试剂盒

SteadyPure Plasmid DNA Extraction Kit

Code No. AG21002

包装量: 250 rxns
保存温度: Package 2-1 -20°C
 Package 2-2 RT (15-25°C)

产品概述

SteadyPure 质粒 DNA 提取试剂盒旨在给客户提供一种快速、简单、经济实惠的小量质粒制备方法。本试剂盒采用优化的 SDS-碱裂解法裂解细胞，并采用高效的离心吸附柱，获得高质量、高纯度的质粒 DNA。可直接用于后续转化、DNA 序列分析、体外转录、限制酶切以及其他各种酶促反应。

安全操作

实验过程中可能会接触到强变性剂，实验操作开始前请穿戴合适的实验服、护目镜、口罩和手套，然后再进行实验操作。

注意：使用后溶液需要收集在废液桶中专门处理。

如果 Buffer LS、Buffer BS 或 Buffer WA 不小心溅到皮肤表面，请立刻用清水冲洗。

详细信息请参考相关 MSDS 信息。

产品组成^{*1}

RNase A (10 mg/ml)	700 μl
Buffer RS ^{*2}	70 ml
Buffer LS	70 ml
Buffer BS	90 ml
Buffer WA	125 ml
Buffer WB ^{*3}	135 ml
Elution Buffer	20 ml
Plasmid DNA Mini Columns	125 sets X 2 pcs
Collection tubes	125 sets X 2 pcs

*1: 组分中RNase A 包装于Package 2-1 中，需放置于-20°C 保存；其余组分均包装于Package 2-2 中，室温（15~25°C）保存。

*2: Buffer RS 首次使用前，需要将 RNase A 混入 Buffer RS 中（RNase A 与 Buffer RS 体积比为 1 : 100），均匀混合后在瓶子上做好标记。加入了 RNase A 后的 Buffer RS 需保存在 2 ~ 8°C，可保存 6 个月。

*3: Buffer WB 在首次使用前，请添加 315 ml 的 100% 乙醇（Buffer WB 与无水乙醇体积比为 3 : 7），混合均匀后在瓶子上做好标记，室温下保存。

保存及运输

保存温度：Package 2-1 -20°C 保存

Package 2-2 室温（15~25°C）保存（温度较低时有的组分会出现沉淀，使用前可 37°C 加热直至沉淀消失，然后使用）

运输温度：Package 2-1 干冰运输或 -20°C 冰袋运输

Package 2-2 室温运输

实验前准备

1. 无水乙醇、灭菌水、1.5 ml 离心管、水浴。
2. 若 Buffer LS 出现沉淀，请于 37°C 溶解后使用。
3. 洗脱结合于 DNA 制备膜上的质粒 DNA 时，将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50 ~ 65°C 使用，将会提高质粒 DNA 的洗脱效率。
4. 操作前请将 Buffer BS 放置于冰上或 4°C 冰箱进行预冷。

► 注意事项

1. 加入 Buffer LS 和 Buffer BS 后, 不能剧烈混合, 剧烈混合会导致菌体基因组 DNA 的释放, 从而污染质粒 DNA。
2. 加入 Buffer BS 后, 应轻柔并充分混合使蛋白质、基因组 DNA 等形成白色团状物, 离心后沉降于离心管底部。若混匀不充分可能会导致不能形成白色团状物, 不利于离心沉淀, 此时应加大混匀力度及次数, 使其形成白色团状物, 再离心沉降于离心管底部。
3. 纯化的质粒 DNA 用于 DNA 序列分析时, 最好使用灭菌水洗脱质粒 DNA。
4. DNA 需长期保存时, 建议在 Elution Buffer 中保存。
5. 如果样本量较大, 请适量增加试剂用量或使用多个 *Plasmid DNA* Mini Columns 进行纯化操作。

► 操作流程



离心、去上清

1. 菌体准备。取 1~5 ml 过夜培养的菌液, 菌液总 OD 约为 2~8【OD 值大于 8 时, 在下述 2~4 步骤中适量增加试剂的用量】, 12,000 rpm 室温下离心 2 min, 弃上清。

2. 向离心管中加入 250 μ l 的 Buffer RS (含 RNase A), 使用涡旋振荡或移液器反复吹打等方式, 充分悬浮菌体沉淀, 直至悬浮液中没有菌块残留。

【注: 请确定 Buffer RS 中已加入适当体积的 RNase A (RNase A 与 Buffer PRS 体积比为 1:100) 。】

3. 向上述悬浮液中加入 250 μ l 的 Buffer LS, 轻柔上下颠倒混匀 6~8 次, 溶液变透明, 此时溶液比较粘稠。

【注: 溶液混匀需轻柔, 切勿剧烈混合, 剧烈混合会导致菌体基因组 DNA 的释放, 从而污染质粒 DNA。】

4. 加入 350 μ l 预冷的 Buffer BS, 此时溶液中出现白色团状物。轻柔上下颠倒混匀 6~8 次。

【注: ① 步骤 3、4 总时长不宜超过 5 min。

② 溶液混匀需轻柔, 切勿剧烈混合, 剧烈混合会导致菌体基因组 DNA 的释放, 从而污染质粒 DNA。】

5. 静置 2 min, 室温下 12,000 rpm 离心 10 min, 取上清。



250 μ l Buffer RS
250 μ l Buffer LS
350 μ l Buffer BS
12,000 rpm 离心 10 min
取上清

6. 将上述溶液转移至 *Plasmid DNA* Mini Columns 中, 室温静置 1 min 后, 室温下 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。



离心, 弃滤液

7. 向 *Plasmid DNA* Mini Columns 中加入 500 μ l 的 Buffer WA, 室温下 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。

8. 向 *Plasmid DNA* Mini Columns 中加入 750 μ l 的 Buffer WB, 室温下 12,000 rpm 离心 1 min, 弃滤液。

【注: 请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的 100% 乙醇。】

9. 重复步骤 8 一次。

10. 将 *Plasmid DNA* Mini Columns 安置于新的 2.0 ml Collection tubes 上, 室温 12,000 rpm 离心 2 min。

【注: ① 此步骤需竖直将吸附柱取出, 避免吸附柱柱头触碰收集管壁;

② 安装于新的 2.0 ml Collection tubes 上有利于提高 DNA 纯度。】



500 μ l Buffer WA 洗一次
750 μ l Buffer WB 洗两次

11. 将 *Plasmid DNA* Mini Columns 安置于新的 1.5 ml 的离心管上, 向 *Plasmid DNA* Mini Columns 膜的中央处加入 50 μ l Elution Buffer 或灭菌水, 室温放置 1 min。

【注: 将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50~65 $^{\circ}$ C 使用时有利于提高洗脱效率。】

12. 室温 12,000 rpm 离心 1 min 洗脱 DNA。



50 μ l 洗脱液或灭菌水
离心