



StarPrep High-speed Plasmid Mini Kit

StarPrep 超速质粒 DNA 提取试剂盒

版本号: V230401

货号: D204

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
D204-01	50 rxn
D204-04	200 rxn

【产品概述】

StarPrep 超速质粒 DNA 提取试剂盒, 是在常规质粒提取试剂盒基础上进行了优化, 结合玻璃纤维素膜特异性吸附溶液中 DNA 的原理, 可快速获得高质量质粒 DNA。该试剂盒采用优化的缓冲液体系和玻璃纤维素膜, 操作简便、快速高效, 适合从 1-4 ml 细菌培养物中提取多至 35 µg 质粒 DNA。纯化的质粒 DNA 可适用于各种常规操作, 包括酶切、PCR、测序、连接、转化、文库筛选、体外翻译、转染一些常规的传代细胞等。

【产品组分】

组分货号	组分名称	D204-01	D204-04	注意事项
ZD2000	Buffer BL	30 ml	120 ml	请使用当天用 Buffer BL 处理过的吸附柱
ZD2001	Buffer S1	15 ml	60 ml	初次使用前请按瓶标说明加入 RNase A, 于 4°C 保存
ZD2002	Buffer S2	15 ml	60 ml	用完立即盖紧瓶盖; 如有结晶析出, 可 37°C 水浴助溶
ZD2003	Buffer S3	20 ml	80 ml	有刺激性, 请勿直接接触皮肤
ZD2005	Buffer WB	8 ml	16 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	5 ml	20 ml	
ZD2008	RNase A (10mg/ml)	150 µl	600 µl	室温保存 12 个月
ZD2201	Spin Columns with Collection Tubes-CD	50 套	200 套	常温密闭干燥保存
ZD2009	1.5ml Centrifuge Tubes	50 个	200 个	常温密闭干燥保存

【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 S1 中, 于 4°C 保存, 可稳定保存 12 个月。

【实验准备】

1. 用户需自行准备的材料: 含适当抗生素的 LB 培养基, 无水乙醇, 台式离心机。
2. 初次使用本试剂盒, 请按瓶标说明向 Buffer S1 中加入 RNase A 溶液, 向 Buffer WB 中加入无水乙醇 (用户自备) (4 倍体积), 并在试剂瓶上做标记。

【操作步骤】

本实验方法适用于从 1-5 ml 过夜培养的大肠杆菌菌液中提取质粒。提取量受菌株、质粒拷贝数、菌液体积和培养时间、培养基类型等因素的综合影响。

1. **柱平衡:** 向离心吸附柱中加入 500 µl Buffer BL, 静置 1 min, 室温下 12,000 rpm 离心 1 min, 弃除收集管中的废液, 将离心吸附柱重新放回收集管中。(请使用当天处理过的吸附柱)。
2. **收菌:** 取 1-5 ml 过夜培养的菌液 (37°C, 12-16 h) 加入离心管中 (自备), 于室温 10,000 rpm 离心 1 min, 彻底弃除上清。
3. **重悬:** 加入 250 µl 含 RNase A 的 Buffer S1, 充分混匀振荡或用枪头反复吹打使细菌彻底分散悬浮。
4. **裂解:** 加入 250 µl Buffer S2, 轻轻上下颠倒混合 5 次, 待细菌充分裂解, 溶液变半透明。
注: 避免剧烈振荡导致基因组 DNA 裂解; 裂解时间不能超过 5 min。
5. **中和:** 加入 350 µl Buffer S3, 轻轻上下颠倒混合 5 次, 充分混匀, 避免剧烈振荡。室温下 12,000 rpm 离心 2 min。
6. **DNA 结合:** 小心吸取上清, 转移到插入收集管的离心吸附柱内, 室温下 12,000 rpm 离心 30 s, 弃除收集管中的废液, 将离心吸附柱重新插回收集管中。



7. **清洗:** 向离心吸附柱中加入 600 μ l 的 Buffer WB (请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm 离心 30 s。
8. **空离:** 将吸附柱放回收集管上, 12,000 rpm 离心 1 min。
9. **洗脱:** 小心取出离心吸附柱, 将其套入一个 1.5ml Centrifuge Tubes。向硅胶吸附膜的中央加入 100 μ l Buffer EB, 室温放置 1 min 后, 12,000 rpm 离心 1 min 收集质粒 DNA。

注: 为提高质粒浓度, 最低可使用 30 μ l 的 Buffer EB, 离心收集后可将洗脱的质粒溶液再次加入离心吸附柱中重复洗脱; 使用 100 μ l Buffer EB 则无需二次洗脱; 对 6 kb 以上的质粒, 可使用预先加热至 55 $^{\circ}$ C 的 Buffer EB 洗脱以提高产量; Buffer EB 不含 EDTA, 故不会影响荧光测序等后续反应; 如必须使用无菌去离子水洗脱, 需注意其 pH 值是否接近中性, 否则应使用 NaOH 溶液将 pH 值调节至 7.0-8.5 之间。

10. **储存:** 弃除离心吸附柱, 纯化的质粒可直接用于后续反应或于 -20 $^{\circ}$ C 长期保存。

【质粒小提常见问题分析及解决方案】

问题	可能原因	解决方案
无质粒	未加抗生素或抗生素失效导致质粒丢失	确保培养基含有正确、有效的抗生素
	质粒拷贝数量低	提取低拷贝质粒需收集较多菌液 (不超 10 ml) 或采用添加氯霉素方法促使质粒复制
	Buffer WB 中未添加乙醇	按照说明书指定方法添加乙醇并做标记后使用漂洗液
产量低	未使用 Buffer BL	请按步骤使用 Buffer BL, Buffer BL 可改善吸附柱的吸附能力并提高吸附柱的均一性和稳定性, 提高 DNA 片段回收效率
	培养时间过短或过长	37 $^{\circ}$ C 孵育 12-16 h 后收集菌液; 培养时间过长可能导致菌体裂解, 质粒丢失
	质粒拷贝数量低	提取低拷贝质粒需收集较多菌液 (不超 10 ml), 或采用添加氯霉素方法促使质粒复制
	洗脱溶液 pH 值不合适	使用试剂盒提供的 Buffer EB, 如用水洗脱, 需将 pH 值调至 7.0-8.5 范围; 对 6 kb 以上的质粒, 可将 Buffer EB 加热至 55 $^{\circ}$ C 有助于提高洗脱效率
	洗脱溶液体积过小	使用 30 μ l 以上的洗脱溶液, 加至硅胶膜的中央, 静置 1 min, 使膜完全浸润后再离心
测序结果不佳	DNA 测序用量过低或过高	调整测序反应使用的 DNA 量。质粒浓度过低, 可通过乙醇沉淀浓缩产物; 浓度过高, 则需要稀释。定量方法应采用电泳染色检测定量
酶切效果不佳	Buffer WB 去除不彻底, 质粒中残留有乙醇或盐	开盖或真空处理, 使残留乙醇挥发; 漂洗液二次洗涤完毕后, 应再次离心 1-2 min, 以彻底去除残留乙醇
基因组 DNA 污染	裂解或中和步骤因剧烈振荡导致基因组 DNA 断裂	裂解和中和步骤应轻柔颠倒混合, 避免涡旋振荡
RNA 污染	Buffer S1 中未添加 RNase A 溶液或未低温保存	初次使用本试剂盒时应将试剂盒提供的 RNase A 溶液全部加入 Buffer S1 中, 使用后于 4 $^{\circ}$ C 保存该试剂; 可稳定保存 12 个月
质粒断裂	裂解时间过长导致质粒断裂	细胞裂解过程应控制在 5 min 以内

【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。