

HiPure Fast Plasmid EF Mini Kit 去内毒素快速质粒小量中提试剂盒

目录

TSP0301

产品名称

本产品适合于从10~15 mL细菌培养液中提取10~70 μg低内毒素的质粒DNA。产品采用独特的溶液体系，可处理各种质粒载体，包括常规高中低拷贝数的载体、大型载体，如BAC、Cosmid、P1等。DNA产量取决于载体拷贝数和菌液量。经纯化的质粒内毒素含量低于1 EU/μg，可直接用于细胞转染、动物注射等实验。

产品组成

组分	TSP0301(50次)	保存条件及稳定性
RNase A	5 mg	-20~8°C保存18个月
Buffer P1	30 mL	15~25°C保存18个月
Buffer P2	30 mL	
Buffer LN3	15 mL	

01

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

Buffer LN4	70 mL	15~25°C保存18个月
Buffer PW1	30 mL	
Buffer PW2	20 mL	
Elution Buffer	15 mL	
Spin Columns (吸附柱)	50 个	
Collection Tubes (2 mL收集管)	50 个	

产品特点

- 冻干RNase A，方便运输与储存；
- 内毒素含量低，得到的质粒可直接用于细胞转染或动物注射等实验。

注意事项及准备

- 首次使用，将0.5 mL Buffer P1加入至RNase A干粉中，吸打混匀5~10次使其充分溶解后转移至Buffer P1中，混匀后置于2~8°C保存，有效期为6个月；
- 如Buffer P2中有沉淀形成，37°C水浴溶解即可正常使用；
- 首次使用，按瓶上标签指示向Buffer PW2中加入无水乙醇，混匀后方可使用；
- 各溶液使用后请及时将盖子拧紧；
- 实验前准备
设备：小型与中大型台式离心机、移液器、水浴锅；
耗材：1.5 mL、2 mL与15 mL离心管。

02

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

操作步骤(实验前请先阅读注意事项)

1. 取10~15 mL过夜培养的菌液加入离心管中，12,000 rpm (13,400×g) 离心2 min，弃上清；
注：若离心机最大离心力无法达到13,400×g，请以3,000~5,000×g离心10 min。
2. 向留有菌体沉淀的离心管中加入500 μL Buffer P1 (请先检查是否已加入RNase A)，高速涡旋使细菌充分重悬；
注：彻底重悬细菌对产量很关键，充分重悬后应看不到细菌团块。
3. 将重悬液转移至新的2 mL离心管中，加入500 μL Buffer P2 至重悬液中，温和的颠倒混匀8~10次。室温放置3 min，期间颠倒混匀3~5次；
4. 加入250 μL Buffer LN3至裂解液中，立即颠倒10~15次，12,000 rpm (13,400×g) 离心10 min；
注：加入Buffer LN3后，应立即颠倒混匀。充分混匀后，产生的絮状沉淀最终是均一白色的。
5. 转移0.95 mL上清液至2.0 mL离心管中，加入0.95 mL Buffer LN4至上清中，颠倒混匀3~5次；
6. 将吸附柱放在收集管中，转移750 μL混合液至柱子中，12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s；
7. 弃废液，将吸附柱放回收集管中，转移750 μL混合液至柱子中，12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s，再重复一次把剩余混合液转移至柱子中离心过滤；
8. 弃废液，将吸附柱放回收集管中，加入500 μL Buffer PW1 至柱子中，12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s；
9. 弃废液，将吸附柱放回收集管中，加入650 μL Buffer PW2 (已添加无水乙醇) 至柱子中，12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s；
10. (可选) 重复步骤9；
11. 弃废液，将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm (13,400×g) 离心2 min；

03

本产品仅供研究使用，不用于临床诊断。

注:为确保下游实验不受残留乙醇的影响,建议将吸附柱开盖放置数分钟,以彻底晾干乙醇。

12. 取出吸附柱,放入干净的1.5 mL离心管中,在吸附膜的中间部位加入40~80 μ L Elution Buffer (60~65°C预热Elution Buffer效果更好),室温静置2 min,12,000 rpm (13,400 \times g) 离心1 min洗脱DNA。

注:如需较多量DNA,可将得到的溶液重新转入吸附柱中,再次离心1 min洗脱DNA;

13. 弃柱子,将质粒保存于-15~-25°C。

■ 常见问题与解决方案

1. DNA产量低

1) 载体拷贝数问题:拷贝数差异会造成产量波动。高拷贝数的载体常有2~3倍的产量波动,每毫升培养过夜的菌液,高拷贝数的载体产量为3~16 μ g。较大载体(>7 kb)和表达型载体常以中低拷贝数为主,每毫升菌液的产量约为0.5~2 μ g。

2) 菌种问题:菌种保存过程中存在质粒丢失现象,建议在培养之前对菌种进行划线活化,以确保产量的稳定性。

3) 细胞未充分裂解:细菌须在Buffer P1/RNase A中充分重悬,成团的细菌因无法裂解会降低产量。

4) 试剂准备有误:Buffer PW2没有加入乙醇或体积不准确。

5) Buffer LN4加入量有误:Buffer LN4加入量与上清液体积保持一致。

2. RNA污染

1) RNase A失活:Buffer P1/RNase A在2~8°C保存且时间不超过6个月。

3. A260/230偏低

1) 本产品采用特异的溶液体系,得到DNA的A260/230为1.3~2.0,与常规方法相比,其比值会低一些,但不影响测序、荧光定量PCR、转染和动物注射等应用。用Buffer PW2进行第三次洗涤,有利于提高A260/230。

■ 保存条件

保质期18个月,试剂盒各组分保存条件见产品组成。

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议,欢迎随时与我们联系:

product@tsingke.com.cn。

■ 关联产品推荐

系列	产品名称	货号	规格
提取系列	Trelief® Plasmid Mini Kit Plus 高纯度质粒小提试剂盒	TSP502-200	200次
	HiPure Plasmid EF Maxi Kit 去内毒素质粒大提试剂盒(通用型)	TSP513	10次
PCR系列	2 \times T5 Super PCR Mix (Colony)	TSE005	5 \times 1 mL
	GoldenStar® T6 Super PCR Mix Ver.2 (1.1 \times) 金牌Mix Ver.2	TSE102	5 \times 1.125 mL
	2 \times T8 High-Fidelity Master Mix	TSE111	5 \times 1 mL
克隆系列	pClone007 Versatile Simple Vector Kit	TSV-007VS	60次
	Trelief® Seamless Cloning Kit	TSV-S3	20次
感受态系列	BL21(DE3) Chemically Competent Cell	TSC-E01	10 \times 100 μ L
	TSR2566 Chemically Competent Cell	TSC-E03	10 \times 100 μ L
	Trelief® 5a Chemically Competent Cell	TSC-C01	10 \times 100 μ L
细胞系列	TSnanofect V1 transfection Reagent TSnanofect V1 转染试剂	TSV404	1 mL
	TSnanofect V2 transfection Reagent TSnanofect V2 转染试剂	TSV405	1 mL

