

SteadyPure 质粒DNA提取试剂盒

SteadyPure Plasmid DNA Extraction Kit

Code No. AG21001

包装量: 50 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：实验过程中产生的废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)	140 μl
Buffer RS ^{*2}	14 ml
Buffer LS	14 ml
Buffer BS	18 ml
Buffer WA	25 ml
Buffer WB ^{*3}	27 ml
Elution Buffer	10 ml
Plasmid DNA Mini Columns	50 sets
Collection tubes	50 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 63 ml 的无水乙醇（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

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 Plasmid DNA Mini Columns 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。若混合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，建议使用灭菌水洗脱质粒 DNA。若需长期保存，建议使用 Elution Buffer 洗脱质粒 DNA。
4. 如果样本量较大，请适量增加试剂用量或使用多个 Mini Columns 进行纯化操作。

► 操作流程

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 室温离心 2 min，弃上清。

【注：菌液超过 2 ml 时，需要将菌液分多次收集于一个 2 ml 离心管中，加入 2 ml 菌液、离心、弃上清，然后再次加入菌液，重复此步骤；或使用更大容积的离心管。】



离心、去上清

2. 向离心管中加入 250 μl 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 RS 体积比为 1:100) 。】

3. 向上述悬浮液中加入 250 μl 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. 向上述裂解液中加入 350 μl 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，12,000 rpm 室温离心 10 min，取上清。



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

6. 将上述上清液全部转移至 *Plasmid DNA* Mini Column 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 Column 中加入 500 μl 的 Buffer WA，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。

8. 向 *Plasmid DNA* Mini Column 中加入 750 μl 的 Buffer WB，12,000 rpm 室温离心 1 min，弃滤液。

【注：请确认 Buffer WB 中已经加入了指定体积的无水乙醇。】

9. 重复步骤 8 一次。

10. 将 *Plasmid DNA* Mini Column 安置于新的 2.0 ml Collection tube 上，12,000 rpm 室温离心 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 tube 上有利于提高 DNA 纯度。】



500 μl Buffer WA 洗一次
750 μl Buffer WB 洗两次

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

【注：① 将 Elution Buffer 或灭菌水加热至 50~65°C 使用时有利于提高洗脱效率；

② 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。】

12. 12,000 rpm 室温离心 1 min 洗脱获得质粒 DNA。纯化的质粒 DNA 可直接用于后续实验或放置 -20°C 中长期保存。



50 μl Elution Buffer
或灭菌水
离心