

版本号：FDI2127

## FinePure EndoFree Plasmid Mini Kit

### FinePure 无内毒素质粒小提中量柱式提取试剂盒

(离心柱型)

目录号：D907

#### 产品内容：

| 产品组成                        | D907<br>(50 preps) |
|-----------------------------|--------------------|
| RNase A(10 mg/ml)           | 300 $\mu$ l        |
| Buffer BL                   | 30 ml              |
| Buffer P1                   | 30 ml              |
| Buffer P2                   | 30 ml              |
| Buffer P4                   | 30 ml              |
| Buffer DW                   | 30 ml              |
| Buffer DW2                  | 12 ml              |
| Buffer EB                   | 15 ml              |
| DNAPure Spin Columns        | 50 个               |
| FinePure Filtration Columns | 50 个               |
| 2 ml Collection Tubes       | 2 $\times$ 50 个    |

#### 储存条件：

本试剂盒置于室温（15-25 $^{\circ}$ C）干燥条件下保存 12 个月。低温下 Buffer P2 会有沉淀形成，使用前需在 37 $^{\circ}$ C 孵育 5-10 min 重新溶解，摇匀后使用。当 RNase A 加入 Buffer P1 后，可在 2-8 $^{\circ}$ C 保存 6 个月。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

---

## 产品简介：

本试剂盒采用SDS和碱裂解法，同时采用特殊的Buffer P4和过滤柱FinePure Filtration Columns，结合玻璃纤维素膜特异性吸附溶液中DNA的方法，可有效的去除内毒素、蛋白等杂质，适合从5-15 ml细菌培养物中提取质粒DNA。整个提取过程仅需1个小时，方便快捷。纯化的质粒DNA可适用于各种常规操作，包括转染一些常规的传代细胞、酶切、PCR、测序、连接、转化、文库筛选、体外翻译等。本试剂盒对Buffer P2进行了优化，可以避免菌量极少时或者菌液过度老化时可能出现的单链质粒DNA，同时对Buffer P4进行了优化，可以有效避免因SDS残留导致的酶切不完全或弥散、转染效率低等情况。

## 注意事项：

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

1. 试剂盒中提供有 RNase A，简短离心，然后将所有 RNase A 溶液加入 Buffer P1，混匀后置于 2-8℃ 保存。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 Buffer DW2 中加入无水乙醇。
3. 所有离心步骤均为使用常规台式离心机室温下进行离心，速度为 12,000 rpm 。
4. 使用前请先检查 Buffer P2 和 Buffer P4 是否出现浑浊，如有混浊现象，可在 37℃ 水浴中加热几分钟，即可恢复澄清。注意不要直接接触 Buffer P2 和 Buffer P4，使用后应立即盖紧盖子。
5. 如果提取质粒为低拷贝质粒时，应加大菌体使用量，同时按比例增加 Buffer P1、Buffer P2 和 Buffer P4 用量，其它步骤相同。

## 操作步骤：

1. 柱平衡步骤：向吸附柱 DNAPure Spin Columns 中（吸附柱放入收集管中）加入 500  $\mu$ l 的 Buffer BL，12,000 rpm 离心 1 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柱子）
2. 取 5-15 ml 过夜培养的菌液，加入离心管中，12,000 rpm 离心 1 min，倒弃培养基，然后将离心管在吸水纸上轻轻拍打去尽残液。
3. 向留有菌体沉淀的离心管中加入 500  $\mu$ l Buffer P1/RNase A，使用移液器或涡旋振荡器

---

彻底悬浮细菌沉淀。

**注意：彻底重悬细菌对产量很关键，重悬后应看不到细菌团块。**

4. 向离心管中加入 500  $\mu$ l Buffer P2，温和地上下颠倒混匀 8-10 次使菌体充分裂解。

**注意：轻轻颠倒混匀，不要剧烈震荡，以免打断基因组 DNA，造成提取的质粒中混有基因组 DNA 片断。此时菌液应变得清亮粘稠，所用时间不应超过 5 min，以免质粒受到破坏。**

5. 向离心管中加入 500  $\mu$ l Buffer P4，立即温和地上下颠倒混匀 8-10 次，充分混匀，此时将出现白色絮状沉淀，室温放置 10 min，然后 12,000 rpm 离心 10 min，此时在离心管底部形成沉淀。

**注意：Buffer P4 加入后应立即混合，避免产生局部沉淀。如果上清中还有微小白色沉淀，可再次离心后取上清。**

6. 将上一步收集的上清液分次加入过滤柱 FinePure Filtration Columns（过滤柱放入收集管中），12,000 rpm 离心 2 min，然后将滤液转移至干净的 2 ml 离心管中（自备）。

7. 向滤液中加入 0.3 倍滤液体积的异丙醇（加入异丙醇过多容易导致 RNA 污染），上下颠倒混匀后转移到吸附柱 DNAPure Spin Columns 中（吸附柱放入收集管中）。

**注意：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。吸附柱的最大容积为 700  $\mu$ l，所以需要分次过柱。**

8. 12,000 rpm 离心 1 min，倒掉收集管中的废液，将吸附柱 DNAPure Spin Columns 放入收集管中。

9. 向吸附柱 DNAPure Spin Columns 中加入 500  $\mu$ l Buffer DW，12,000 rpm 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

10. 向吸附柱 DNAPure Spin Columns 中加入 500  $\mu$ l Buffer DW2（请先检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 30 秒，倒掉收集管中的废液，将吸附柱 DNAPure Spin Columns 放入收集管中。

11. 重复操作步骤 10 一次。

12. 12,000 rpm 离心 3 分钟。

13. 将吸附柱 DNAPure Spin Columns 置于新的 1.5 ml 离心管中，加入 100-300  $\mu$ l Buffer EB（Buffer EB 需在 65-70°C 水浴中预热 3-5 min）至吸附膜的中央，室温放置 1 分钟，

---

12,000 rpm 离心 1 分钟将质粒溶液收集到离心管中。

**注意：如果使用去离子水洗脱，需用 NaOH 将去离子水 pH 调整至 $\geq 7.0$ 。**