

SepiaCFPS™ *E.coli* Core Kit

(Z0001)

SepiaCFPS™ *E.coli* Core Kit（Z0001）
快速入门指南

(1) 试剂盒组成

- 试剂盒可耐受冻融；<u>长时间置于室温会影响性能</u>，建议分装或记录使用次数。

组分	货号	规格	保存条件
Extract	E0002	0.3 mL、1 mL、30 mL	−80℃
Buffer	B0001	0.4 mL、1.33 mL、40 mL	≤−20℃
Control DNA	D0001	0.025 mL	≤−20℃

(2) 解冻与混匀

- 在冰上解冻。
- 轻弹、倒置或轻微涡旋振荡各管以混匀。
- 提取物可能有沉淀，可混匀或分离。
- 缓冲液可能出现沉淀，务必充分混匀。

(3) 冰上配制

- 按下表配制；可按需等比例放大或缩小。
- 建议配制预混液，以减少孔间差异。

组分	阳性对照	阴性对照	样品
Extract (3.33×)	3 μL	3 μL	3 μL
Buffer (2.5×)	4 μL	4 μL	4 μL
Control DNA (200 nM)	0.2 μL	—	—
Sample DNA	—	—	4 nM (p), 8 nM (l)*
添加剂/水	2.8 μL	3 μL	补至 10 μL

*注：若样品为质粒 DNA (p)，加入量为终浓度 4 nM；若样品为线性 DNA (l)，加入量为终浓度 8 nM。

(4) 运行

- 氧气供应很重要。请按下表选择气体交换充分的反应容器。
- 若使用微孔板，建议充分振荡且使用透气封膜（推荐 BreatheEasy®），并将浸湿且不滴水的纸巾平铺在封膜上方保湿，可增加产量。下表转速适用于 3 mm 振幅的 Thermomixer® C 或同类设备。
- 去除气泡：运行前低速瞬时离心。
- 孵育：29℃，6–12 h。若蛋白折叠不佳，可改为 21℃、最长 12 h；完成后降至 4℃。
- 对照 sfGFP 约 30 min 内可见。

反应容器	静置	振荡
384 孔板（方形平底）	5–10 µL	10–30 µL，1200 rpm
96 孔板（圆形平底）	15–30 µL	30–100 µL，1200 rpm
96 孔 PCR 板或八联管	5–10 µL	不适用
48 孔 FlowerPlate®	不适用	0.8–1.5 mL，650 rpm
培养皿（35 mm）	0.1–1 mL	不适用
培养皿（90 mm）	0.1–7 mL	不适用
离心管（0.65–1.5 mL）	10–20 µL	不适用

(5) 完成

- 检测（阳性对照/荧光蛋白）：用酶标仪作终点或动力学检测。sfGFP（TL）：Ex 485 nm / Em 528 nm（或等效设置）；Mg-aptamer（TX）：Ex 610 nm / Em 650 nm（或等效设置）。
- 下游产物：高速离心后使用上清液，或在 ≤4℃ 保存。

(6) 问题或反馈

sepiabio.com.cn | info@sepiabio.com.cn

仅供科研使用。

BreatheEasy® 是 Diversified Biotech 的注册商标；FlowerPlate® 是 Beckman Coulter 的注册商标；Thermomixer® C 是 Eppendorf 的注册商标。