

SuperSpeed Mini Plasmid Kit (with color)

快速质粒小提试剂盒（彩色版）

目录号：DNE51

试剂盒组成

Component	DNE51-01 (50 preps)	DNE51-02 (100 preps)
Buffer P1	15 ml	25 ml
Buffer P2	15 ml	25 ml
Buffer P4	15 ml	25 ml
Buffer WB2(concentrate)	6 ml	13 ml
Buffer EB	10 ml	15 ml
RNase A (25 mg/ml)	60 µl	100 µl
Spin Columns EC with Collection Tubes	50	100
Collection Tubes	50	100

保存方法

室温（15-30°C）保存。

产品介绍

本试剂盒采用改良的碱裂法裂解细胞，可在 10 min 内获得高质量质粒 DNA，适用于提取 1-4 ml 过夜培养的大肠杆菌。溶液包含指示剂，通过颜色变化，指示裂解、中和是否完全，从而保证质粒提取的质量，实现操作可视化。质粒提取得率和质量与宿主菌的种类和培养条件，细胞的裂解，质粒拷贝数，质粒的稳定性，抗生素等因素有关。

使用本试剂盒提取的质粒 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、体外翻译等。

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。

注意事项（请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项）

- 1) Buffer P1 中含有**红色指示剂**，通过颜色的变化，指示裂解、中和是否完全，从而保证质粒提取的质量，实现操作可视化。
- 2) 储存温度低时 Buffer P2 可能会出现浑浊，如果有浑浊现象，可 37°C 加热几分钟至澄清。
- 3) Buffer EB 中不含有螯合剂 EDTA 成分，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。

标准抽提步骤（以下离心步骤均在室温下进行）

使用前，将 RNase A 全部加入至 Buffer P1 中，4°C 保存；加入指定量无水乙醇到 Buffer WB2。

1. 取 1-4 ml 过夜培养的菌液，加入离心管中，13,000 rpm 离心 1 min，尽可能的吸弃上清，收集菌体。
注意：菌液超过 1.5 ml 时，可以离心弃上清后，在同一个离心管内加入更多的菌液，重复步骤 1，直到收集到足够的菌体。
 2. 向菌体沉淀中加入 150 µl **红色 Buffer P1**（请先检查是否已加入 RNase A），使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀。
注意：如果有未彻底混匀的菌块，会影响裂解，导致提取量和纯度偏低。
 3. 向离心管中加入 150 µl Buffer P2，温和地上下翻转 8-10 次使菌体充分裂解，**形成红色透亮的溶液**（整个过程不宜超过 5 min）。
注意：温和地混合，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。
 4. 向离心管中加入 200 µl Buffer P4，立即快速上下颠倒混匀 15-20 次（**颜色由红色完全变成黄色，指示混合均匀，中和完全**），此时将出现絮状沉淀。13,000 rpm 离心 2 min，小心取上清至新的离心管（上清可能稍显浑浊，不影响提取进程）。
 5. 向上清中加入 200 µl 异丙醇，涡旋混匀，全部转移到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns EC）中，13,000 rpm 离心 30 s，弃掉收集管和废液。
 6. 将吸附柱 EC 放入至新的 Collection Tubes（已提供），加入 500 µl Buffer WB2（请先检查是否已加入无水乙醇），13,000 rpm 离心 2 min，弃掉收集管和废液。
 7. 将吸附柱 EC 置于一个干净的离心管中，向吸附膜的中间部位滴加 30-100 µl Buffer EB，13,000 rpm 离心 1 min 收集质粒溶液。
注意：如果需要质粒浓度较高，可适当减少洗脱体积，但最小体积不应小于 30 µl。若用 ddH₂O 做洗脱液应确保其 PH 值在 7.0-8.5 范围内，PH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。
-