

Version: AD 3.0 (2025.03.17修订)

SPARKeasy Mini Plasmid Ultra-Fast Kit

高纯度质粒小量极速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AD0101

01/产品组分

序号	组分	50 次 AD0101-A	100 次 AD0101-B	200 次 AD0101-C	
1	RNase A (10 mg/mL)	150 μL	250 μL	500 μL	
2	溶液 P1	15 mL	25 mL	50 mL	
3	溶液 P2	15 mL	25 mL	50 mL	
4	溶液 P3	20 mL	35 mL	70 mL	
5	去蛋白液 PE	16 mL	31.5 mL	63 mL	
		第一次使用前按说明加指定量无水乙醇			
		9.4 mL	18.5 mL	37 mL	
6	漂洗液 WB	20 mL	20 mL×2	25 mL×3	
		第一次使用前按说明加指定量无水乙醇			
		80 mL	80 mL×2	100 mL×3	
7	洗脱缓冲液 EB	10 mL	15 mL	20 mL	
8	吸附柱 AC	50 个	100 个	200 个	
9	收集管 (2 mL)	50 个	100 个	200 个	

02/保存条件

本试剂盒所有组分室温 (15-25°C) 保存。

03/产品概述

本试剂盒采用改进 SDS-碱裂解法裂解细胞, 10 min 内可完成单个或多个样品的抽提工作, 质粒 DNA 在高盐、低 pH 值状态下选择性地结合于离心吸附柱内的硅基质膜上, 再通过漂洗液将杂质和其它细菌成分去除, 最后低盐、高 pH 值的洗脱缓冲液将纯净质粒

DNA 从硅基质膜上洗脱。

推荐使用量及产量：高拷贝质粒推荐使用量 1-5 mL，得率可多达 30 µg；低拷贝质粒或大于 10 kb 的大质粒，推荐使用量 6-10 mL，同时按比例增加溶液 P1、溶液 P2、溶液 P3 的用量，其它步骤相同。

04/自备材料

无水乙醇

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

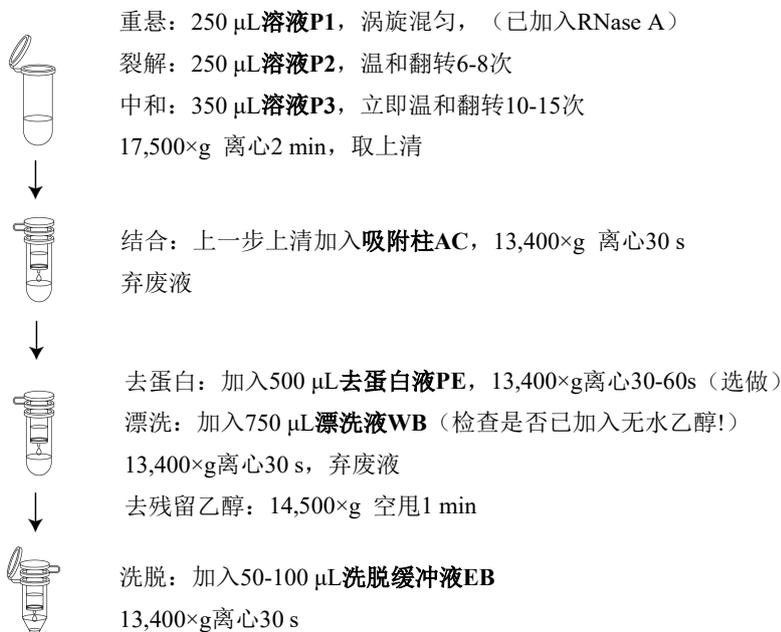
- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25°C）下进行。
- ◇ 初次使用时，将试剂盒所带的 RNase A 全部加入溶液 P1 后（终浓度 100 µg/mL）置于 4°C 保存。如果溶液 P1 中 RNase A 失活，提取的质粒可能会有微量 RNA 残留，在溶液 P1 中补加 RNase A 即可。
- ◇ 环境温度低时溶液 P2、P3 可能会析出沉淀或出现浑浊，可在 37°C 水浴加热帮助恢复澄清，不要剧烈摇晃，以免形成大量的泡沫。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化等影响，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。

06/使用方案

1. 取 1-5 mL 过夜培养的菌液，12,000 rpm（13,400×g）离心 30 s，尽可能的倒干上清，收集菌体。
 - ▲ 菌液超过 1.5 mL 时，可多次离心将菌体沉淀收集在同一个离心管中。
2. 加 250 µL 溶液 P1（请先检查是否已加入 RNase A！）重悬菌体沉淀，吹打或涡旋振荡至彻底悬浮。
 - ▲ 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。
 - ▲ 溶液 P1 含有指示剂，重悬后溶液应为浑浊的红色。
3. 加 250 µL 的溶液 P2，温和地上下翻转 6-8 次使菌体充分裂解至清亮的紫色。
 - ▲ 温和地混合，不要剧烈震荡，以免质粒断裂！如果菌体少，溶液很快变成清亮紫色，略微粘稠拉丝后就可以做下一步。菌体量较多时，可稍微静置至稍清亮，**所用时间不应超过 5 min！**
4. 加 350 µL 溶液 P3，立即温和地上下翻转 10-15 次，充分混匀时会出现黄色絮状沉淀。13,500 rpm（17,500×g）以上离心 2 min，小心取上清。
 - ▲ 加入溶液 P3 后应该立即温和混匀，以免产生 SDS 的局部沉淀。
 - ▲ 充分混匀时，溶液应为黄色，如果黄色中混有紫色，需要继续温和翻转混匀。
 - ▲ 有些离心机未达到设定转速就开始计时，可以适当增加离心时间。
 - ▲ 有些质粒离心后沉淀效果不好，可以适当提高离心速度至 15,000 rpm（21,500×g）。若仍有少量漂浮物，将枪头伸入液面下只吸取上清即可。

5. 将上一步所得上清加入吸附柱AC中（吸附柱放入收集管中），12,000 rpm（13,400×g）离心30 s，弃废液。
6. 可选步骤：加入500 μL去蛋白液PE（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400×g）离心30-60 s，弃废液。
▲此步骤为了去除痕量核酸酶等杂质，如所用菌株为 JM 系列、HB101 等 endA 菌株或野生型菌株，核酸酶含量丰富，应加此步骤；如所用菌株为 XL-1 Blue、Top10 和 DH5α等缺陷型菌株，核酸酶含量低，则可略过此步骤。
7. 加入750 μL漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm（13,400×g）离心30 s，弃废液。
▲如下游实验要求较高，可重复本步骤一次。
8. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,500 rpm（14,500×g）以上离心1 min，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
9. 取出吸附柱AC，放入一个干净的离心管（自备）中，在吸附膜的中间部位加50-100 μL洗脱缓冲液EB（洗脱缓冲液事先在65-70°C水浴中加热效果更好），12,000 rpm（13,400×g）离心30 s。如果需要较多量质粒，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，离心30 s。
▲吸附柱 AC 放入一个干净的离心管（自备）中后，可开盖晾干 1-2 min，有利于增加纯度。
▲洗脱体积越大，洗脱效率越高。如果需要质粒浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 30 μL，体积过小降低质粒洗脱效率，减少质粒产量。

07/流程简图



08/相关产品

- AA0201 SPARKeasy 细菌基因组DNA快速提取试剂盒
- AA1904-A RNase A (10 mg/mL)
- AC0402 SPARKeasy 改良型细菌RNA快速提取试剂盒
- AD0103 SPARKeasy 无内毒素高纯质粒小量快速提取试剂盒
- AD0105 SPARKeasy 无内毒素质粒小提中量提取试剂盒
- AD0303 SPARKeasy 无内毒素高纯质粒大量提取试剂盒
- AD0306 SPARKeasy 无内毒素高纯质粒大量快速提取试剂盒
- AE0101 胶回收/PCR产物纯化试剂盒
- AK0601 Spark HiFi Seamless Cloning Kit (1-5个片段)
- AK0603 Spark HiFi Seamless Cloning Kit (单片段)

本产品仅用于科学研究！

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

