Version：AD 4.0（2024.02.22修订）

SPARKeasy Superpure Mini Plasmid Kit

高纯度质粒小量快速提取试剂盒

（离心柱型）

目录号：AD0102

01/产品组分

序号	组分	50 次 AD0102-A	100 次 AD0102-B	200 次 AD0102-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		
		60 mL	60 mL×2	75 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

RNase A于-20℃保存，其它组分室温（15-25℃）保存。

03/产品概述

本试剂盒采用改进 SDS-碱裂解法裂解细胞，30 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，再通过去蛋白液和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 左右；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℃）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℃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℃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。

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，室温放置4 min。

   ▲温和地混合，不要剧烈震荡，以免基因组 DNA 剪切断裂！**所用时间不应超过 5 min**！以免质粒受到破坏。此时菌液应变得清亮粘稠，如果菌体少，很快清亮粘稠后就可以做下一步。

4. 加350 μL溶液P3，立即温和地上下翻转6-8次，充分混匀时会出现白色絮状沉淀。12,000 rpm（13,400×g）离心10 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。

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30-60 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600 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，重复此步骤一遍。

8. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,000 rpm（13,400×g）离心2 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℃水浴中加热效果更好），室温放置2 min，12,000 rpm（13,400×g）离心1 min。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1 min。

▲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

重悬：250 μL**溶液P1**，涡旋混匀，（已加入RNase A）
裂解：250 μL**溶液P2**，温和翻转6-8次，室温放置4min
中和：350 μL**溶液P3**，立即温和翻转6-8次
13,400×g 离心10 min，取上清

结合：上一步上清加入**吸附柱AC**，13,400×g 离心30-60 s
弃废液

去蛋白：加入500 μL**去蛋白液PE**，13,400×g离心30-60s（选做）
漂洗：加入600 μL**漂洗液WB**（检查是否已加入无水乙醇!）
13,400×g离心30 s，弃废液，重复操作一遍
去残留乙醇：13,400×g 空甩2 min

洗脱：加入50-100 μL**洗脱缓冲液EB**
室温放置2 min，13,400×g离心1 min

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

AD0101 SPARKeasy 质粒小量极速提取试剂盒

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

AE0101 胶回收/PCR产物纯化试剂盒

AK0601 Spark HiFi Seamless Cloning Kit

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