

红色超快速质粒小提试剂盒

Red Fast Plasmid DNA Miniprep Kit

组分	保存条件	DP111-01 100 次	DP111-02 100 次×2
RNaseA 冻干粉	室温	1 支	2 支
溶液 P1	室温（加入 RNase A 后置于 2-8°C 保存）	30mL	60 mL
溶液 P2	室温	30 mL	60 mL
溶液 P5	室温	40 mL	80 mL
漂洗液 WB	室温	25mL	25mL×2
洗脱缓冲液 EB	室温	10 mL	20 mL
BMDRed	室温	150μL	300 μL
吸附柱 AC	室温	100 个	200 个
收集管 (2 mL)	室温	100 个	200 个

保存条件

收到本试剂盒后，请按照试剂瓶上面的指示温度存放各成分。储存 18 个月不影响使用效果。若观察到部分溶液产生沉淀，使用前可在 37°C 水浴中保温 10 min 以溶解沉淀，不影响提取效果。加入 RNase A 和 BMDRed 后的溶液 P1 应置于 2-8°C 保存，可稳定保存 6 个月。

产品介绍

本试剂盒采用了改进的 SDS-碱裂解程序，在高盐、低 pH 值溶液状态下，质粒 DNA 特异性地结合到离心柱内的硅基质膜上，再通过漂洗液将杂质成分去除，最后用洗脱缓冲液将纯净质粒 DNA 从硅基质膜上洗脱。以下操作步骤适合于提取 1-4 mL 的过夜培养的大肠杆菌，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，质粒的稳定性和抗生素等因素有关。使用本试剂盒提取的质粒产量高、纯度好，可以直接用于酶切、转化、PCR、体外转录、测序等各种分子生物学实验。

产品特点

快速：提取全流程仅需 6 min；

高效：独特缓冲体系，可大大提高质粒 DNA 提取效率；

可视化：独特的颜色指示剂指示操作过程。

注意事项

1. 溶液 P1 在使用前需要先加入 RNase A 和 BMDRed 指示剂。吸取 1mL 溶液 P1，溶

解 RNase A 冻干粉，将完全溶解的 RNase A 加入溶液 P1 后。

2.将 BMDRed 指示剂全部加入到 P1 中，混匀并保存溶液 P1 于 2-8°C 冰箱中。

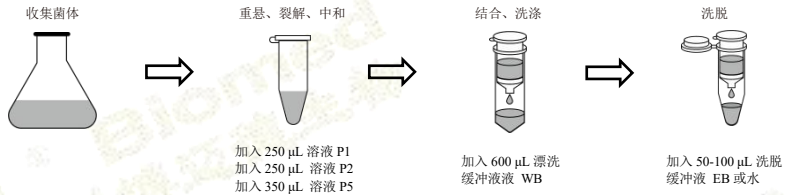
3.使用前请先检查溶液 P2 和 P5 是否出现浑浊，如有混浊现象，可在 37°C 水浴中加热，恢复澄清后再使用。

4. BMDRed 指示剂是一种指示剂，可以指示整个操作的正确性。按照 BMDRed:溶液 P1 为 1:200 的比例使用。溶液 P1 重悬菌体沉淀后指示为浑浊的红色悬浊液；添加溶液 P2 彻底混匀后，当溶液的颜色变为澄清的紫色时，表明菌体充分裂解。再添加溶液 P5 彻底混匀后，当溶液转变为黄色，说明中和复性充分。指示剂对后续的 PCR、酶切测序等分子生物学操作都没有影响。

5.所有离心步骤均可使用常规台式高速离心机室温下进行。

4.溶液 P2 和 P5 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。

操作流程图



若溶液 P1 中加入 BMDRed 指示剂，菌体重悬、裂解、中和过程中存在颜色指示变化，如下图所示。



操作步骤

使用前请先在漂洗液 WB 中加入无水乙醇，加入体积请参照试剂瓶上的标签

1.取 1-4 mL 过夜培养的菌液，台式离心机 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 min，收集菌体，尽量吸除上清（菌液较多时可以通过多次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中）。

2.加入 250 μL 溶液 P1（请先检查是否已加入 RNase A 和 BMDRed），使用移液器或涡旋振荡器彻底悬浮细菌沉淀。

注意：未彻底重悬菌体沉淀会影响裂解效果，影响质粒的提取量和纯度。

3.加入 250 μL 溶液 P2，盖上管盖，温和颠倒混匀 6-8 次，使菌体充分裂解；

注意：裂解后菌体应变得清亮粘稠，若未变得清亮，可能是由于菌体量过多，裂解不充分导致。使用

BMDRed 后，若菌体裂解充分，则溶液应由浑浊的粉红色彻底转变为澄清的紫色。

4. 加入 350 μL 溶液 P5，盖上管盖，温和颠倒混匀 6~8 次，充分混匀，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 2 min；

注意：使用 BMDRed 指示剂后，若菌体中和复性充分，则溶液应由澄清的紫色彻底转变为浅黄色，并且有白色絮状沉淀产生。如果在黄色中混有紫色，则说明复性不充分，继续混匀至溶液颜色完全变为澄清。如离心后沉淀不完全，可延长离心时间至 5 min。

5. 小心吸取上清，将上清转入吸附柱 AC 中（**吸附柱 AC 套在收集管中**），注意不要吸出沉淀。12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 sec，弃掉收集管中的废液，将吸附柱 AC 放入收集管中。

注意：如需更高的质粒产量，可以将收集管中的滤液重新倒入吸附柱 AC 中，再次离心 30sec。

6. 往吸附柱 AC 中加入 600 μL 漂洗液 WB（请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇），12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 sec，弃掉收集管中的废液，将吸附柱 AC 放入收集管中。

7. 将吸附柱 AC 放入收集管中，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 1 min；去掉吸附柱中残留的漂洗液。

8. 取出吸附柱 AC，放入一个干净的 1.5 mL 离心管中。在吸附膜的中间部位加入 50~100 μL 洗脱缓冲液 EB，12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 30 sec 将质粒溶液收集到离心管中。如需较多量 DNA，可流出液重新转入吸附柱 AC 中，再次离心 30 sec。

注意：洗脱体积越大，洗脱率越高，如需得到较高浓度的 DNA，可以适当减少洗脱体积，但最小体积不应少于 50 μL ，体积过小会降低 DNA 洗脱得率，降低产量。

常见问题及解决方案：

常见问题	可能原因	解决方案
质粒 DNA 产量低	质粒拷贝数过低	加大菌液量至 6~8 mL，同时按比例增加溶液 P1，P2 和 P5 的用量，延长吸附和洗脱时间
	菌种异常	养菌前最好先划线活化，以稳定产量
	菌体重悬和裂解不充分	菌体须在溶液 P1（含 RNase A 中充分重悬，勿使菌体成团）
	试剂准备有误	加入乙醇浓度需控制在 80%。溶液 P2，P5 若有沉淀析出需加热溶解
	培养时间太长	菌液培养时间需控制在 12~16 小时
基因组污染	裂解出现问题	加入溶液 P2 时，必须轻柔颠倒混匀，处理时间请勿超过 5 分钟