

# AFT SuperFast Plasmid Miniprep plus Kit

## 超快质粒小提

产品名称	单位	货号
AFT SuperFast Plasmid Miniprep plus Kit	50T	AFT2015-01

### 【储存条件】

在室温(15~25°C)干燥条件下, 可保存 12 个月; 更长时间的保存可置于 2~8°C。若溶液 II 产生沉淀, 应在使用前置于 37°C 下溶解沉淀。单独包装的 RNase A 在室温可稳定保存 12 个月。加入 RNase A 后的 Solution I 应置于 2~8°C 保存, 可稳定保存 6 个月。

### 【产品简介】

本试剂盒利用多彩的颜色变化, 监控质粒提取的每步过程, 让实验变得高效并轻松有趣。本试剂盒用于高纯度质粒 DNA 的小量制备。菌体经碱裂解、高盐、低 pH 处理, 质粒可从菌体中释放出来, 并特异、高效地被离心吸附柱吸附。通过清洗液的洗涤可去除杂质, 在低盐、高 pH 条件下洗脱, 最后得到高达 20 ug 纯度较高的质粒 DNA。使用本试剂盒每次可处理 1~4 ml 过夜培养的菌液, 可在 8 min 之内完成提取任务。所得质粒可直接用于酶切、转化、PCR、测序等各种分子生物学实验。

### 【产品组份】

试剂盒成分	AFT2015-01
Solution I	15 ml
Solution II	15 ml
Solution IV	20 ml
Buffer WB2 <b>按要求在 Buffer WB2 中加入无水乙醇</b>	15 ml
Buffer EB	10 ml
RNase A (10 mg/ml)	150 ul
MiniSpin Column With Collection Tubes	50 套

(注意: 使用前将全部 RNase A 溶液加到 Solution I 中混合均匀, 2 - 8°C 保存)

### 【产品特点】

1. 快捷、高效: 操作简便, 得率高, 节约时间。
2. 纯度高: 沉淀致密, 去杂干净。
3. 含有指示剂, 可直观判断操作过程中样本裂解程度。

### 【注意事项】

1. 细菌培养时间一般为 12~16 小时 (**用锥形瓶或者试管摇菌, 留够足够的空间让细菌接触空气, 利于细菌生长**), 如接种量大则应减少培养时间, 过度培养会降低质粒质量甚至导致质粒 DNA 突变。
2. 注意溶液 I, II 和 IV 的用量比例, 若细菌量增大, 需按比例放大这些溶液的使用量。
3. 随菌体增多应延长 Solution II 的作用时间, 直至溶液成粘稠透明状, 但时间过长会导致质粒 DNA 变性。
4. 质粒的产量跟细菌量、质粒拷贝数、质粒大小和操作规范程度密切相关。
5. 纯化的质粒在电泳中表现为 2~3 条带有时甚至为 4~6 条带均属正常, 未分开的环套质粒, 易被误判为基因组 DNA。

**【操作步骤】**

1. 取 1 ~ 4 ml 过夜培养的菌液，室温 12,000 rpm 离心 1 min，尽量将上清去除干净。  
(注意：根据菌液的浓度决定取液量，浓度高时取 1.5 ml 菌液离心即可，浓度低时可多收集一次)
2. 加入 250 ul Solution I，旋涡震荡或用移液器充分吹打使菌体重悬均匀，呈现出均匀浑浊的**棕红色**。  
(注意：菌体沉淀一定要悬浮均匀，如有未彻底悬浮的菌块会影响裂解，导致提取的质粒浓度及纯度降低)
3. 加入 250 ul Solution II，温和颠倒混匀使菌体完全裂解，直到溶液变成清亮、粘稠的**紫红色**。  
(注意：不可剧烈震荡，以免造成基因组 DNA 片段的污染，如未完全变得清亮，可能是菌体太多，可增加 Solution II 的用量，在后续的操作中 Solution IV 的用量也要相应增加)
4. 加入 350 ul Solution IV，立即颠倒混匀，可见**红黄相间**的沉淀物产生，继续混匀直到完全变为**黄色**，然后 12,000 rpm 离心 2 min。  
(注意：Solution IV 加入后应立即混合，避免产生局部沉淀，如果上清中还有紫色漂浮物，说明复性不充分，继续混匀至溶液颜色完全变为澄清的黄色)
5. 将上清液倒入到离心吸附柱中，12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中滤液。
6. 加入 500 ul Buffer WB2，室温 12,000 rpm 离心 2 min，弃收集管中滤液。  
**注意：Buffer WB 2 为浓缩液，初次使用按要求加入无水乙醇，用后应立即盖紧瓶盖，以防酒精挥发。**
7. 将离心吸附柱置于一个新的 1.5 ml 塑料离心管（自备）中，加入 50 ~ 100 ul 的洗脱液 Buffer EB，12,000 rpm 离心 1 min，离心管底溶液即质粒 DNA。

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。