

FlashPure Fast Plasmid Mini Kit

FlashPure快速质粒小提试剂盒

■ 目录号

TSP0302

■ 产品简介

本产品优化了传统的SDS-碱裂解法,结合先进的硅胶膜吸附技术,可在6 min之内快速获得质粒DNA。适用于从1~5 mL的细菌培养物中提取多至35 μg的质粒DNA,提取的质粒DNA可直接用于测序、限制性内切酶消化、细菌转化等分子生物学实验。

■ 产品组成

组分	TSP0302 (200次)	保存条件及稳定性
RNase A	600 μL	-25~-15°C保存1年
TSINGRed	300 μL	15~25°C保存1年
Buffer FP1	60 mL	
Buffer FP2	60 mL	
Buffer FP3	80 mL	
Buffer FWB	50 mL	
Eluent	25 mL	
吸附柱AC (含2 mL收集管)	200套	

01

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

■ 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。

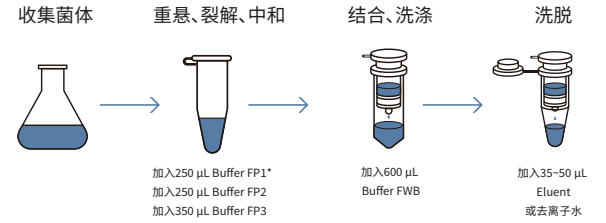
■ 注意事项及准备

- 首次使用前,将RNase A和TSINGRed全部加入Buffer FP1中,混匀后置于2~8°C保存;
- TSINGRed是一种指示剂,用来指示操作的正确性,对人体无害,加入对后续PCR扩增、酶切和测序都没有影响。使用时按照TSINGRed : Buffer FP1=1:200的比例混匀,混匀后的溶液为澄清的红色;
- 首次使用前,向Buffer FWB中加入200 mL无水乙醇,混匀后方可使用,加入无水乙醇后置于15~25°C保存,保质期6个月;
- 如Buffer FP2中有沉淀形成,37°C水浴溶解即可正常使用;
- 请勿直接接触Buffer FP2、FP3,操作时需要戴乳胶手套、口罩和眼镜。若沾染皮肤、眼睛应立即用大量清水或生理盐水冲洗,必要时及时就医;
- 各溶液使用后请及时将盖子拧紧;
- 实验前准备
设备:小型台式离心机、移液器、水浴锅;
耗材:1.5 mL或2 mL离心管。

02

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

■ 操作流程图



*若Buffer FP1中加入TSINGRed,则重悬、裂解、中和过程中存在颜色指示变化,如下图所示。



■ 操作步骤 (实验前请先阅读注意事项)

- 1.取1~5 mL过夜培养的菌液,12,000 rpm (13,400×g)离心1 min,收集菌体,尽量吸除上清;
- 2.加入250 μL Buffer FP1 (请先检查是否已加入RNase A和TSINGRed)重悬菌体沉淀,涡旋震荡至无明显菌块为止;
注:若菌体沉淀未彻底悬浮会影响裂解效果,导致提取得率和纯度偏低。
使用TSINGRed与菌体混匀后,溶液呈现浑浊的粉红色。
- 3.加入250 μL Buffer FP2,温和地上下翻转6~8次,使菌体充分裂解;
注: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TSINGRed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 Buffer FP3,温和地上下翻转6~8次,充

03

本产品仅供研究使用,不用于临床诊断。

分混匀, 12,000 rpm (13,400×g) 离心2 min;

注:使用TSINGRed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, 且伴随白色絮状沉淀的产生, 如离心后沉淀不完全, 可延长离心时间至10 min。

5.小心吸取上清, 将上清转入吸附柱AC中(注意不要吸出沉淀), 12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s, 弃废液, 将吸附柱AC放回空收集管;

6.在吸附柱AC中加入600 μL Buffer FWB(请先检查是否已加入指定体积的无水乙醇) 12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s, 弃废液;

7.将吸附柱AC放回空收集管中, 12,000 rpm (13,400×g) 离心1 min;

8.取出吸附柱AC, 放入干净的1.5 mL离心管中。在吸附膜的中间部位加入35~50 μL Eluent (60~65°C预热 Eluent效果更好), 12,000 rpm (13,400×g) 离心30 s。如需较多量DNA, 可将得到的溶液重新转入吸附柱AC中, 离心30 s。

注:洗脱体积越大, 洗脱得率越高, 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25 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

1.低拷贝质粒或大质粒(>10 kb) 提取

如果提取的质粒为低拷贝或大质粒(>10 kb), 应加大菌液量的使用, 使用6~8 mL过夜培养的菌液, 同时按比例增加Buffer FP1、Buffer FP2和Buffer FP3的用量, 同时在吸附和洗脱时适当延长时间, 从而增加提取效率, 其它步骤相同。

2.质粒DNA产量低

1)与质粒拷贝数相关。载体因拷贝数差异会造成质粒产量明显的波动。高拷贝数的载体常有2~3倍的产量波动, (每毫升培养过夜的菌液, 高拷贝数的质粒载体产量为3~16 μg)。而大质粒和表达型载体常以中低拷贝数为主, 每毫升菌液的产量仅约为0.5~2 μg。

2)菌种异常。菌种保存过程中存在质粒丢失现象, 养菌前最好先划线活化, 以稳定产量。

3)菌体重悬和裂解不充分。菌体须在 Buffer FP1(含 RNase A) 中充分重悬, 成团的菌体因无法充分裂解而导致产量降低。

4)试剂准备有误。Buffer FP2若有沉淀析出需加热溶解。Buffer FWB加入乙醇体积不准确(乙醇浓度需控制在80%)。

3.基因组污染

1)培养时间太长: 菌液培养时间需控制在12~16 h。

2)裂解问题: 加入Buffer FP2时, 必须轻柔颠倒混匀; 处理多个样品时, 从加入Buffer FP2时算起, 总时间不要超过5 min。

■ 保存条件

保质期1年, 试剂盒各组分保存条件见产品组成。

■ 技术支持

本公司产品使用过程中如有任何疑问与建议, 欢迎随时与我们联系: product@tsingke.com.cn。

■ 关联产品推荐

产品名称	货号	应用
高纯度质粒小提试剂盒	TSP502-200	20 μg以内质粒DNA小量提取
2×T5 Super PCR Mix (Colony)	TSE005	克隆鉴定或以微生物为模板的直接扩增
Trelief® Seamless Cloning Kit	TSV-S3	无缝克隆与定点突变等实验
Trelief®5a 感受态细胞	TSC-C01	适用于常规的克隆、蓝白斑筛选等实验
pClone007 Versatile Simple Vector Kit	TSV-007VS	适用于T-A克隆与平末端克隆

