



一步法酵母质粒小提试剂盒使用说明书

产品编号：PE055

产品组成：

	Components	PE055-50T	PE055-100T	储存温度
A 包	酶解液	11 mL	22 mL	-20°C
B 包	一步法提取液	42 mL	85 mL	RT
	洗涤液(含乙醇)	40 mL	80 mL	RT
	洗脱液	10 mL	25 mL	RT
	质粒吸附柱	50 套	100 套	RT
说明书			1 份	

注意：本产品包含 A 包（袋装）低温成分，B 包（盒装）常温成分。A 包在试剂盒外单独提供，注意签收。并按储存温度单独储存，有效期 2 年。

产品说明：

1. 本产品无需使用酚、氯仿等有毒有害试剂，单个实验操作可在 1 小时内完成。
2. 本试剂盒提取的酵母质粒适用于 PCR 和转化 E.coli 等实验。。
3. 酵母质粒拷贝数极低，不可通过电泳或者分光光度计定量。

操作步骤：

1. 溶解酶解液。将酶解液置于 37°C 溶解(未用完的酶解液可以置于 4°C 保存一周，或者 -20°C 长期保存)。
2. 收集菌体。在 2 mL 离心管中，分次收集 2-5 mL 过夜培养的酵母菌液，12000 rpm 室温离心 1 min，弃上清，保留菌体沉淀。
3. 菌体重悬与酶解。向菌体沉淀中加入 200 μ L 的酶解液，重悬菌体，37°C 摇床(200-250 rpm)孵育 30 min。
4. 在上述酶解产物中，加入 800 μ L 一步法提取液，吹打或者震荡混匀。
5. 1,2000 rpm 室温离心 2 min。小心吸取上清至纯化柱中，室温静置 2 min，1,2000 rpm 室温离心 1 min，弃穿透液。



6. 向吸附柱中加入 700 μL 洗涤液，12,000 rpm 室温离心 1 min。
7. 将吸附柱放回收集管中，12,000 rpm 室温离心 2 min。
4. 将吸附柱转移至新的 1.5 mL 离心管中。向吸附柱中央加入 30 - 50 μL 洗脱液(65-70 $^{\circ}\text{C}$ 预热)，室温静置 2 min。12,000 rpm 室温离心 1 min。
5. 穿透液即为酵母质粒 DNA，取 5 μL 用于 50 μL 体系的 PCR 反应，或用于大肠杆菌转化等后续实验。

20231023 版