

经典酵母质粒小提试剂盒

(酶解法+碱裂解法)

产品编号：PE054

使用说明书

产品组成:

	Components	50T	储存温度
A 包	酶解液	26 mL	-20°C
B 包	溶液 I (悬浮液)	10 mL	RT
	溶液 II (碱裂解液)	10 mL	RT
	溶液 III (中和液)	25 mL	RT
	洗涤液 IV	26 mL	RT
	TE	10 mL	RT
	质粒纯化柱	50 套	RT
说明书		1 份	

产品说明:

本试剂盒通过酶解法结合经典碱裂解法处理酵母菌，获得的质粒可用于后续 PCR 和转化 E.coli 等实验。

提取步骤一（酶解）：

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 500 μ L 的酶解液，重悬菌体，37°C 摇床 (200-250 rpm/min) 孵育 1-2 h。
4. 收集沉淀。12000 rpm 室温离心 1 min，弃上清，保留菌体沉淀。

提取步骤二（提取）：

1. 将溶液 II 和溶液 III 于 40°C 水浴锅中预热至沉淀完全溶解，室温静置待用。
2. 向菌体沉淀中加入 180 μL 溶液 I，移液器吹打或涡旋震荡混匀。
3. 加入 180 μL 溶液 II，上下颠倒 6-8 次混匀，室温静置 5 min。
4. 加入 440 μL 溶液 III，立即上下颠倒混匀。
5. 1,2000 rpm 室温离心 10 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。

注意：离心后可能会有白色悬浮物，取上清避开即可，少量悬浮物不影响提取结果。

6. 向纯化柱中加入 500 μL 洗涤液 IV，12000 rpm 室温离心 1 min，弃穿透液。
7. 将纯化柱放回收集管中，12000 rpm 室温离心 2 min。
8. 将上述纯化柱转移至新的 1.5 mL 离心管中，加入 30 - 50 μL TE，室温静置 2 min，1,2000 rpm 室温离心 2 min。
9. 穿透液即为所得酵母质粒，取 5 μL 用于 50 μL 体系的 PCR 反应。取 5-10 μL 用于大肠杆菌转化。