



## 经典酵母质粒小提试剂盒（含溶壁酶）说明书

产品编号：PE054

产品组成：

	Components	PE054-50T	PE054-100T	储存温度
A 包	酶解液	26 mL	52mL	-20°C
B 包	溶液 I (悬浮液)	10 mL	20mL	RT
	溶液 II (碱裂解液)	10 mL	20mL	RT
	溶液 III (中和液)	25 mL	50mL	RT
	洗涤液 IV	26 mL	52mL	RT
	洗脱液	10 mL	20mL	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. 本试剂盒通过酶解法结合经典碱裂解法处理酵母菌，无需使用酚、氯仿等有毒有害试剂，获得的质粒可用于后续 PCR 和转化 E.coli 等实验。
2. 酵母质粒拷贝数极低，不可通过电泳或者分光光度计定量。

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  $\mu$ L 的酶解液，重悬菌体，37°C 摇床(200-250 rpm)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  $\mu$ L **溶液 I**，移液器吹打或涡旋震荡混匀。
3. 加入 180  $\mu$ L **溶液 II**，上下颠倒 6-8 次充分混匀，室温静置 5 min。
4. 加入 440  $\mu$ L **溶液 III**，立即上下颠倒混匀。
5. 1,200 rpm 室温离心 10 min。小心吸取上清至吸附柱中，室温静置 2 min，1,200 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. 向吸附柱中加入 500  $\mu$ L **洗涤液 IV**，12000 rpm 室温离心 1 min，弃穿透液。
7. 将吸附柱放回收集管中，12000 rpm 室温离心 2 min。
8. 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  $\mu$ L **洗脱液**(65-70°C 预热)，室温静置 2 min，1,200 rpm 室温离心 1 min。
9. 穿透液即为所得酵母质粒，取 5  $\mu$ L 用于 50  $\mu$ L 体系的 PCR 反应。或用于大肠杆菌转化等后续实验。

20230921 版