

快速酵母质粒小提试剂盒

产品编号：PE052

使用说明书

保存温度：RT 储存，未开封可保存 24 个月。

产品内容：

| Components | PE052-50T | PE052-200T |
|-----------------------------------|-----------|-------------------|
| A 液（悬浮液） | 15 mL | 60 mL |
| 玻璃珠（425-600 μ m, Acid washed） | 30 g | 120 g |
| B 液（裂解液） | 15 mL | 60 mL |
| C 液（结合液） | 50 mL | 100 mL \times 2 |
| D 液（洗涤液，含乙醇） | 25 mL | 50 mL \times 2 |
| E 液（洗脱液） | 10 mL | 10 mL \times 2 |
| DNA 吸附柱 | 50 套 | 50 套 \times 4 |
| 说明书 | 1 份 | |

产品说明：

本试剂盒在酵母质粒小提试剂盒（PE051）的基础上加以改进，增大了细胞处理量，优化了纯化步骤，节约了提取所用的时间，提高了质粒的产量和纯度。本品无需使用酚、氯仿等有毒有害试剂，整个实验操作可在 1 h 内完成。快速提取的质粒样品量足以满足 PCR 扩增，以及转化大肠杆菌。

另外，此方法提取的 DNA 虽无蛋白和盐污染，但是会有部分基因组 DNA 污染，不能通过测吸光度值来定量，仅适用于 PCR 和大肠杆菌转化实验。

使用方法：

常规提取（需时 60 min）

一、裂解

1. 用 2 mL 的离心管分次离心收集酵母菌液 4 mL，12,000 rpm 离心 30 s，弃上清。
2. 加入 300 μ L **A 液** 悬浮酵母菌体，转移至 1.5 mL 离心管中。加入约 0.6 g 玻璃珠，涡旋震荡 2 min，再加入 300 μ L **B 液**，继续涡旋震荡 1 min。
3. 置于 -20 $^{\circ}$ C 冷冻 10 min 或 -80 $^{\circ}$ C 速冻 1 min，然后置于金属浴或水浴 95 $^{\circ}$ C 解冻 1 min。
4. 12,000 rpm 室温离心 3 min。

二、DNA 收集

1. 吸取 300 μ L 的上清液至新离心管中，加入 1 mL **C 液**（结合液），震荡混匀；分两次上 DNA 吸附柱，每次上柱后均先室温放置 2 min，然后 12,000 rpm 离心 1 min，倒掉穿透液。
2. 在吸附柱中加入 500 μ L **D 液**（洗涤液），12,000 rpm 离心 1 min，弃穿透液。
3. 再将吸附柱 12,000 rpm 离心 30 s，甩干乙醇。
4. 将吸附柱放入一个干净的 1.5 mL 离心管中。在吸附柱中央加入 50 μ L **E 液**（洗脱液，需 65-70 $^{\circ}$ C 预热），室温静置 2 min。12,000 rpm 离心 2 min。
5. 穿透液即为酵母质粒 DNA，可用于 PCR、转化大肠杆菌等后续实验。

快速提取（需时 30 min）

一、裂解

1. 用 1.5-2 mL 的离心管离心收集酵母菌液 1.5-2 mL，12,000 rpm 离心 30 s，弃上清。

2. 加入 150 μL **A 液** 悬浮酵母菌体，转移至 1.5 mL 离心管中。加入约 0.3 g 玻璃珠，涡旋震荡 2 min，然后再加入 150 μL **B 液**，继续涡旋震荡 1 min。
3. 将上述离心管置于 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 速冻 1 min 后，金属浴或者水浴加热解冻。
4. 12,000 rpm 室温离心 3 min。

二、DNA 收集

1. 吸取 150 μL 的上清液至新离心管中，加入 500 μL **C 液**（结合液），震荡混匀后加入到 DNA 吸附柱中，然后 12,000 rpm 离心 1 min，倒掉穿透液。
2. 在吸附柱中加入 300 μL **D 液**（洗涤液），12,000 rpm 离心 1 min，弃穿透液。
3. 再将吸附柱 12,000 rpm 离心 30 s，甩干乙醇。
4. 将吸附柱放入一个干净的 1.5 mL 离心管中。在吸附柱中央加入 50 μL **E 液**（洗脱液，需 $65\text{-}70\text{ }^{\circ}\text{C}$ 预热），室温静置 2 min。12,000 rpm 离心 2 min。
5. 穿透液即为酵母质粒 DNA，可用于 PCR、转化大肠杆菌等后续实验。

注意事项：

1. **D 液**（洗涤液）含有乙醇，易挥发，用后请您及时拧紧盖子。
2. 通常酵母质粒拷贝数较低，通过琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计很难检测到。
3. 如仅需 PCR 检测，可选用本公司酵母阳性克隆快速检测试剂盒（SK2421），无需提取步骤，可直接进行菌落 PCR 扩增。