

酵母质粒小提试剂盒 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	PE051-50T	PE051-250T
A 液（悬浮液）	10 mL	50 mL
玻璃珠（425-600 μ m, Acid washed）	10 g	50 g
B 液（纯化液）	3 mL	15 mL
C 液（促沉液）	1.5 mL （用前加 15 mL 无水乙醇）	8 mL （用前加 80 mL 无水乙醇）
D 液（洗涤液）	13.3mL （用前加 40 mL 无水乙醇）	31.3 mL \times 2 （用前加 94 mL 无水乙醇）
ddH ₂ O	1 mL	5 mL
说明书	1 份	

注：PE051 原货号为 SK2410。

产品说明：

本试剂盒用于酵母质粒的小量提取实验，提取过程无需酶解，无需使用酚、氯仿等有毒有害试剂。本试剂盒使用传统沉淀法纯化，耗时稍长（整个提取过程约需 3 h），但可获得较高的产率。对于大片段质粒（>10 Kb），与市场常规吸附柱纯化方法相比，损耗率较低。由于酵母质粒拷贝数极低，提取所得质粒，无法通过分光光度计或电泳检测。适用于 PCR 检测或者转化大肠杆菌的实验。

准备工作：

预先在 C 液中加入注明量的无水乙醇，颠倒混匀后置于-20 °C或冰上待用；在 D 液中加入注明量的无水乙醇待用。

操作步骤：

裂解酵母

1. 用离心管收集 1.5 mL 过夜培养好的酵母菌液，12,000 rpm 离心 30 sec，弃上清；

2. 用 100 μL **A 液** 悬浮酵母菌体，加入 0.2 g 玻璃珠；涡旋震荡 5 min，然后再加入 100 μL **A 液**，继续涡旋震荡 1-2 min；
3. 在 100 $^{\circ}\text{C}$ 水浴或金属浴上保温 3-5 min 后迅速置于冰上冷却；
4. 12,000 rpm 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min。

质粒纯化

1. 吸取 100 μL 的上清液至新离心管中，加入 50 μL **B 液**，-20 $^{\circ}\text{C}$ 放置 1 h；
2. 12,000 rpm 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min，吸取上清液 100 μL 到新的离心管中；
3. 上述上清液中加入 2 倍体积的预冷 **C 液**（确定已经加入无水乙醇），迅速颠倒混匀，置于冰上 15 min，12,000 rpm 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 10 min。
4. 小心吸弃上清，避免触及沉淀；在沉淀中加入 1 ml 的 **D 液**（确定已经加入无水乙醇），以 12,000 rpm 于 4 $^{\circ}\text{C}$ 离心 3 min；
5. 吸弃上清液，沉淀在室温干燥后，加入 20-50 μL 的 ddH₂O 溶解沉淀；
6. 所得产物可用于 PCR，转化大肠杆菌等后续实验。

注意事项：

1. C 液和 D 液加入乙醇易挥发，用后及时拧紧盖子。
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. 通过此方法提取的酵母质粒 1-5 μL 可用做 PCR 反应的模板或者用于转化大肠杆菌。

推荐产品：

产品名称	货号	产品名称	货号
酵母阳性克隆快速检测 Kit（单双杂筛库）	SK2420	YPDA Medium	PM2011
酵母基因组菌落 PCR Kit（单杂诱饵检测）	SK2422	YPDA Agar Medium	PM2021
酵母菌落快速转化 Kit（一步法）	SK2390	酵母蛋白提取 Kit	SK2440
经典酵母转化 Kit	SK2400	金担子素 A	CA2332
酵母质粒提取 Kit	SK2410	2.5 M 3-AT 溶液(过滤除菌)	SL0930
快速酵母质粒提取 Kit	SK2411	X- α -gal 溶液（20 mg/ml，过滤除菌）	SL0940
Super 酵母感受态制备与转化 Kit	SK2401	Super 酵母感受态制备与转化 Kit Plus	SK2402

注：更多筛选培养基及相关产品详见 www.coolaber.com