天净沙系列

CAT#:221150

常温运输及保存

酵母质粒 DNA 纯化试剂盒（过柱法）

Yeast Plasmid DNA Purification Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是专门用于提取酵母质粒 DNA 的产品(不适用于酵母 dsRNA 质粒)。是根据酵母细胞壁十分坚硬的特点，在细菌质粒碱裂解法的基础上，增加了高效裂解酵母细胞壁的预处理步骤，可在 1 小时左右得到可以用于 PCR 或转化酵母质粒 DNA。本产品具有以下特点:

1. 即开即用，经济实惠，客户自己不需要准备额外的试剂。
2. 实验快速，整个过程只需要一个小时左右，可同时处理多个样品。
3. 得到的酵母质粒 DNA 纯度高，可直接用于转化和 PCR 等实验。
4. 可以从平板上的菌斑或液体培养的酵母中抽提质粒 DNA。
5. 安全，不需使用玻璃珠、酚、氯仿等试剂。
6. 每 5-10 mL 酵母培养液一般可以提取到 1 μg 左右的高拷贝酵母质粒 DNA。
7. 酵母质粒 DNA 纯化溶液 C 中有蓝色染料，便于目测非常关键的碱变性和中和反应两步的溶液混匀状况，保证实验效果。
8. 本产品足够 50 次的酵母质粒 DNA 微量提取。
9. 本产品只用于科研。

规格及成分

本产品使用大扁盒包装

成分	编号	规格	包装
酵母质粒 DNA 纯化溶液 A	221150a	30 mL	30 mL 本色瓶
酵母质粒 DNA 纯化溶液 B	221150b	13 mL	15 mL 本色瓶
酵母质粒 DNA 纯化溶液 C	221150c	13 mL	15 mL 本色瓶
酵母质粒 DNA 纯化溶液 D	221150d	18 mL	30 mL 本色瓶
破壁酶（干粉，真菌破壁用）	220743	50 mg	0.5 mL 本色管
RNase A 溶液（10 mg/mL）	5-797	0.15 mL	0.5 mL 红盖管
离心吸附柱	220144	50 套	塑料袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL 本色瓶
DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	10 mL	10 mL 本色瓶
使用手册	221150sc	1 份	无

运输及保存

常温运输和保存，其中破壁酶和 RNase A 溶液需要低温运输，-20℃保存有效期一年。

自备试剂

无菌水

使用方法	1. 将 5-10 mL 酵母过夜液体培养物分多次转移到 1.5 mL 塑料离心管中。每转移一次后，需要 14000×g 室温离心 1 分钟，然后吸弃液体培养基。注意：不要使用培养时间超过 16 小时的酵母液体培养物，否则质粒 DNA 产量偏低；也不要使用超过 10 mL 的酵母液体培养物，否则破壁不充分，降低质粒 DNA 产量。 2. 加入 1 mL 自备的无菌水，充分震荡混匀，14000×g 室温离心 1 分钟，吸弃上清。 3. 加入 600 μL 酵母质粒 DNA 纯化溶液 A，充分震荡细胞沉淀重悬，95℃保温 10 分钟。 4. 14000×g 室温离心 1 分钟，弃上清液。 5. 加入 250 μL 含破壁酶的酵母质粒 DNA 纯化溶液 B（配制方法是将本试剂盒提供的 50 mg 粉末状的破壁酶和 0.15 mL RNase A 溶液全部加入到装有 13 mL 酵母质粒 DNA 纯化溶液 B 的塑料瓶中，轻柔摇晃混匀后使用。未用完的部分需要分装成小份然后放-20℃保存，否则破壁酶很容易失去活性），吹打混匀。 6. 37℃保温 30 分钟，延长保温时间到 60 分钟有利于细胞壁的裂解。注意：放置较长时间后，酵母质粒 DNA 纯化溶液 B 中的裂壁酶会逐渐失活，额外再加入一些裂壁酶（如蜗牛酶、Lyticase、Zymolyase、Lywallzyme 等，总浓度为 1 mg/mL）可以极大提高产量。 7. 将离心管放冰浴冷却后，加入 250 μL 酵母质粒 DNA 纯化溶液 C，轻轻颠倒混匀溶液蓝色将变得均匀并且溶液将变得粘稠，然后室温放置 5-10 分钟。注意：不要剧烈震荡，否则基因组 DNA 将断裂并污染质粒 DNA。 8. 加入 350 μL 酵母质粒 DNA 纯化溶液 D，轻轻颠倒混匀几次，溶液由蓝色变成无色，将有白色絮状沉淀产生，然后冰浴放置 10-30 分钟（如果质粒较长，最好放置 30 分钟）。 9. 14000×g 室温离心 6-10 分钟，将上清液转移到离心吸附柱中。注意：不要将漂浮在液面的沉淀物（如果有的话）转移到离心吸附柱中。上清液可以分多次转移。 10. 室温下放置至少 2 分钟以让质粒 DNA 充分结合到离心吸附柱上。 11. 14000×g 室温离心 1 分钟，弃穿透液。 12. 将 500 μL 通用洗柱液加入离心吸附柱中，14000×g 室温离心 1 分钟，弃穿透液。

	13. 重复上步操作一次。 14. 14000×g 室温离心 1 分钟去除离心吸附柱中残留液体。不要此步省略，否则残留洗液将影响后续的电泳、PCR 和转化实验。 15. 将离心吸附柱套在一干净的 1.5 mL 塑料离心管中，加入 30-100 μL DNA 洗脱液（基因组纯化专用）（加入的量取决于预期的 DNA 浓度）至离心吸附柱的膜的中央。 16. 室温下放置至少 2 分钟。 17. 14000×g 室温离心 1 分钟以洗脱 DNA。 18. 如有必要,可以再加入适量 DNA 洗脱液(基因组纯化专用)洗出残留的 DNA。第二次洗脱得到的 DNA 的产量约为第一次的 30-50%。不要将已经洗脱的、含 DNA 的溶液再加上去。
关联产品	酵母线粒体 DNA 纯化试剂盒（测序级，沉淀法）

20230510lyl