

Biospin Yeast Plasmid DNA Extraction Kit

Biospin 酵母质粒DNA 少量提取试剂盒

TECHNICAL SUPPORT:

For technical support, please dial phone number : 0086-571-87774567-5215 or 5211, or fax to
0086-571-87774553

Email to reagent@bioer.com.cn.

Website: www.bioer.com.cn

试剂盒组成

货号	BSC01S1G	BSC01M1G
试剂盒组成	50 人份	100 人份
RS Buffer	30.0ml	60.0ml
Resuspension Buffer	12.5ml	25ml
Lysis Buffer	12.5ml	25ml
Neutralization Buffer	17.5ml	35ml
PW Buffer	25ml	50ml
Wash Buffer	13.0ml (使用前加入 52ml 无水乙醇)	26.0ml (使用前加入 104ml 无水乙醇)
Snailase	260mg×2 (2-8℃)	260mg×4 (2-8℃)
RNase A	50ul (2-8℃)	100ul (2-8℃)
Elution Buffer	10.0ml	20.0ml
Spin columns	50	100
说明书	1 份	1 份

储存与运输

- ◆ 本试剂盒中除蜗牛酶和 RNA 酶保存于 2~8℃ 以外，其余试剂保存于室温（15~25℃）。如蜗牛酶已经稀释成溶液，请保存于-20℃。所有试剂如果按上述方法保存，可以稳定保存 12 个月。如已将 RNA 酶全部移入重悬液，请将重悬液保存于 2~8℃。
- ◆ 可在常温下运输。

介 绍

本产品基于常规的碱裂解法和膜吸附技术，用于酵母质粒小量纯化，可以从 3-5ml 酵母培养液中提取 1-2ug 的质粒 DNA。加入蜗牛酶消化酵母细胞的细胞壁，碱裂解酵母细胞后，通过离心柱，质粒 DNA 高效专一的结合到膜上，经过洗涤，除去杂质，最终用洗脱液可将质粒 DNA 轻易的洗脱下来。得到的质粒 DNA 可直接用于 PCR、转化、Southern 杂交等下游分子生物学实验。

需要的配套设备和材料

- * 无菌 1.5ml 离心管
- * 各种规格移液器和无菌移液器吸头
- * 离心机（最大转速 > 14,000g）
- * 漩涡振荡器
- * β-巯基乙醇
- * 无水乙醇

重要提示

- 1) 使用前请将 Snailase 用 RS Buffer 1.3ml /管振荡溶解，并-20℃ 保存。
- 2) 使用前请将 β-ME 按 10ul/ml 加入 RS Buffer，混合物室温可放置 1 周。

- 3) 第一次使用时请将 RNase A 溶液全部移入 Resuspension Buffer, 并将 Resuspension Buffer 保存于 2~8℃。
- 4) 使用前请按 Wash Buffer 瓶身标签标明体积加入无水乙醇, 并将其混匀。
- 5) 使用前检查 Lysis Buffer 和 Neutralization Buffer 是否有沉淀, 如果有沉淀用 37℃ 温浴溶解。不要剧烈摇晃 Lysis Buffer。
- 6) Lysis Buffer 用好后立即盖好盖子以防止酸化。
- 7) 本试剂盒可从 3~5ml 过夜培养的酵母中提取高质量酵母质粒 DNA。

操作过程

1. 将 3~5ml 过夜培养的酵母加入 1.5ml 离心管中。
2. 于 5,000×g 离心 5min, 并弃去上清液。
如有需要, 可多次重复步骤 1、2, 以收集更多酵母菌。但勿过量, 以免影响提取质粒的质量。
3. 加 500μl RS Buffer (已加 β-巯基乙醇) 和 50ul Snailase Solution, 充分重悬酵母沉淀; 37℃温浴 60min, 期间每隔 15min 上下颠倒离心管, 然后 5,000×g 离心 5min, 并弃上清液。
重悬后应该没有酵母团块。上清尽量弃干净。
4. 加 250μl Resuspension Buffer 充分重悬沉淀。
5. 加 250μl Lysis Buffer, 立即轻柔颠倒离心管 5-10 次, 室温放置 2-4min, 不能超过 5min。
不要剧烈振动, 以防止基因组DNA被剪切。
如果同时操作多个样品, 每加入一管立即颠倒一管, 不要采用全部加入一起颠倒的方法, 计时从第一管样品加入开始。
6. 加 350μl Neutralization Buffer, 立即轻柔颠倒离心管 5-10 次, 溶液出现白色絮状物, 室温静置 1min。
7. 于 13,000×g 离心 15min。
如离心机转速不够可延长离心时间, 直至形成紧密的白色沉淀。
8. 将步骤 7 离心后得到的上清液小心转移到 Spin column 内, 确定不要吸入沉淀。于 12,000×g 离心 30 秒, 并弃去接液管内液体。
9. 向 Spin column 内加 500μl PW Buffer, 于 10,000g 离心 30 秒, 并弃去接液管内液体。
10. 向 Spin column 内加 600μl Wash Buffer, 于 12,000g 离心 30 秒, 并弃去接液管内液体。重复一次。
11. 再次于 12,000g 离心 1min, 然后将 Spin column 放置在干净的 1.5ml 离心管中, 室温静置 10min。
如不进行该步离心, 则无法保证离心柱内残液被彻底清除。
12. 向 Spin column 内加入 50-100μl 65℃预热的 Elution Buffer, 并于 65℃静置 2min。
可根据实验的实际需要决定洗脱液用量。
13. 于 12,000g 离心 1min, 1.5ml 离心管内溶液中含有酵母质粒 DNA。
提取的酵母质粒 DNA 可直接用于各类下游实验, 如果不立即使用, 请保存于-20℃。

常见问题及对策

1. 没有提取到质粒

如在洗脱后，发现溶液中没有质粒 DNA，请检查是否按 Wash Buffer 瓶身标签标明的体积加入了无水乙醇。

2. 吸光度测量结果问题

1) 吸光度测量的是未知样品与调零标准之间的相对吸光度，所以请用与洗脱液体相同的液体，对测量样品进行稀释和调零。

2) OD_{260}/OD_{230} 比值偏低，可用 Wash Buffer 多一次对离心柱进行洗涤。

3) 如 $OD_{260-320}/OD_{280-320}$ 比值偏低，说明有蛋白质污染。应在加入 Neutralization Buffer 后，以足够高的转速离心，使沉淀紧密，并小心地吸取上清液，避免吸入沉淀。

4) 如 $OD_{260-320}/OD_{280-320}$ 比值偏高，说明有 RNA 污染，请在重悬液中加入 RNase A 至终浓度 $100 \mu\text{g/ml}$ 。

3. 电泳结果问题

1) 有基因组条带。在加入 Lysis Buffer 及 Neutralization Buffer 后，颠倒离心管应柔和，以避免基因组 DNA 受到剪切。

2) 有 RNA 污染。请在重悬液中加入 RNase solution。