

96-Well Yeast Plasmid Miniprep Kit

96孔酵母质粒小提试剂盒

(YD1281)

【产品介绍】

本试剂盒通过溶壁酶消化加玻璃珠研磨的方式破碎酵母细胞壁，而后采用常规碱裂解法结合膜吸附技术，可同时从96个1-1.5 mL酵母培养液中提取高纯度的质粒DNA，用于PCR扩增、酶切、Southern杂交等下游应用。

【产品组成】

组成/货号	YD1281-00	YD1281-01	YD1281-02
Preps	1×96	4×96	20×96
2.2 mL Deep Well Plate	1	4	20
Breathable Film	1	4	20
1.6 mL Deep Well Plate	2	8	40
Sealing Film	6	24	120
96-Well DNA Plate	1	4	20
0.5 mL Deep Well Plate	1	4	20
Buffer SE	50 mL	200 mL	2 × 500 mL
Buffer YPI	27 mL	108 mL	540 mL
Buffer YPII	27 mL	108 mL	540 mL
Buffer YPIII	37 mL	148 mL	2 × 370 mL
Buffer KB	55 mL	240 mL	3 × 400 mL
DNA Wash Buffer	30 mL	3 × 40 mL	6 × 100 mL
Glass Beads (in 8-Tube Strip)	12 × 8 × 50 mg	48 × 8 × 50 mg	240 × 8 × 50 mg
Lyticase solution	3 mL	12 mL	60 mL
RNase A	240 μL	960 μL	4.8 mL
Elution Buffer	20 mL	80 mL	400 mL

仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

【贮存条件及有效期】

Lyticase solution保存于-20℃。**RNase A**溶液、其他试剂及耗材4-28℃保存。首次使用前将RNase A瞬时离心后全部加入**Buffer YPI**，混合液4℃保存。

试剂盒自生产之日起有效期12个月。



【实验前需准备的材料】

- ☐ 台式离心机（离心法）：配备离心96孔深孔板的水平转头，离心力 $\geq 2,000 \times g$
- ☐ 真空抽滤设备（抽滤法）：真空泵及配套的96孔板抽滤装置
- ☐ β -巯基乙醇或二硫苏糖醇（DTT）
- ☐ 无水乙醇

【注意事项】：

- ◆ **DNA Wash Buffer**首次开瓶使用时，请在瓶中加入相应体积的无水乙醇。

YD1281-00：加入120 mL无水乙醇；

YD1281-01：加入160 mL无水乙醇；

YD1281-02：加入400 mL无水乙醇。

- ◆ 根据样本计算溶液使用量，使用前在每毫升**Buffer SE**中加入**10 uL β -巯基乙醇**或**20 uL 2M的DTT溶液**，混合液可以在室温保存1周。

【操作步骤】

A. 离心法

1. 将酵母接种到含有**1-1.5 mL YDP培养基**的**2.2 mL Deep Well Plate**中，使用**Breathable Film**封口，**30°C**振荡培养**16-24**小时。可选：使用自选方式培养酵母后分装**1-1.5 mL**培养液（不超过 **2×10^7** 细胞）到**2.2 mL Deep Well Plate**中，进行下一步操作。
2. 室温， **$1,500 - 2,000 \times g$** 离心**5 min**。
3. 撕掉封口膜，吸弃培养基。将深孔板倒扣在纸巾上，轻敲深孔板以去除培养基残留。
4. 加入**480 μ L Buffer SE**（确保已按要求加入 **β -巯基乙醇或DTT**）和**30 μ L Lyticase solution**，使用**Sealing Film**封口；最快速度涡旋混匀**1 min**。注意：充分悬浮酵母细胞有助于提高质粒得率。
5. **30°C**孵育**30 min**以上；室温， **$2,000 \times g$** 离心**5 min**；撕掉封口膜，吸弃上清。
6. 加入**250 μ L Buffer YPI**（确保已按要求加入**RNase A**），样品孔中倒入**Glass Beads (in 8-Tube Strip)**，使用新的**Sealing Film**封口，最快速度涡旋混匀**5 min**。
7. 静置片刻至**Glass Beads**完全沉降，转移上清至新的**1.6 mL Deep Well Plate**中。
8. 加入**250 μ L Buffer YPII**，使用新的**Sealing Film**封口；颠倒混匀**4-6**次至溶液透明；室温静置**5 min**。注意：①避免高强度混合以防止染色体DNA断裂以及质粒



纯度降低；②确保存储时旋紧Buffer YPII的盖子。

9. 撕掉封口膜，加入**350 μL Buffer YPIII**，使用新的**Sealing Film**封口；快速颠倒混匀数次直至白色絮凝沉淀形成；室温，**2,000 ×g**离心**10 min**。
10. 小心转移上清液至放在新的**1.6 mL Deep Well Plate**上的**96-Well DNA Plate**中。注意吸取上清时尽量不要触碰底部的沉淀。
11. 室温，**2,000 ×g**离心**5 min**，倒掉废液。
12. 将**96-Well DNA Plate**重新放在**1.6 mL Deep Well Plate**上，加入**500 μL Buffer KB**，**2,000 ×g**离心**5min**，倒掉废液。
13. 将**96-Well DNA Plate**重新放在**1.6 mL Deep Well Plate**上，加入**600 μL DNA Wash Buffer**（确保已按要求加入无水乙醇），室温，**4,000 ×g**离心**5 min**，倒掉废液。
14. 可选：重复步骤13漂洗一次。
15. 将**96-Well DNA Plate**重新放在**1.6 mL Deep Well Plate**上，室温，**2,000 ×g**离心**15 min**，去除膜上残留的乙醇。
16. 可选：将**96-Well DNA Plate**放入烘箱**50℃**烘干**40 min**，去除乙醇残留。
17. 将**96-Well DNA Plate**放在新的**0.5 mL Deep Well Plate**上，加入**100-200 μL Elution Buffer**，室温静置**1 min**，**2000× g**离心**5 min**。
18. 洗脱至**0.5 mL Deep Well Plate**中的质粒DNA可以直接用于下游应用。

B. 真空抽滤法

1. 酵母培养、裂解、中和步骤与离心法一致，详见离心法步骤 1-9，后续按如下步骤进行操作。
2. 按照厂商说明依次将真空抽滤装置的底座、**1.6 mL Deep Well Plate**或废液槽、抽滤支架及**96-Well DNA Plate**依次装配好，连接底座与真空泵。
3. 小心转移离心法第9步得到的上清至置于抽滤装置上的**96-Well DNA Plate**中。注意：如果有未使用的孔，需要使用**Sealing Film**对其进行封口处理。
4. 打开真空泵开始抽滤，待所有样本抽滤完成后关闭真空泵；倒掉废液，重新将**1.6 mL Deep Well Plate**或废液槽安装好。
5. 在**96-Well DNA Plate**中加入 **500 μL Buffer KB**，抽滤 **2min**；倒掉废液，重新将**1.6 mL Deep Well Plate**或废液槽安装好。
6. 在**96-Well DNA Plate**中加入 **600 μL DNA Wash Buffer**（确保已按要求加入无水乙醇），抽滤 **2min**；倒掉废液，重新将**1.6 mL Deep Well Plate**或废液槽安装好。



7. **可选：**重复步骤6漂洗一次。
8. 打开真空泵，将 **96-Well DNA Plate**空抽 **10 min**。
9. 将**96-Well DNA Plate**放入烘箱**50°C**烘干**40 min**，去除乙醇残留。
10. 重新装配抽滤装置，使用新的**0.5 mL Deep Well Plate**替换收集废液的**1.6 mL Deep Well Plate**或废液槽，并安装好烘干后的**96-Well DNA Plate**。
11. 向**96-Well DNA Plate**中加入**100-200 μ L Elution Buffer**，室温放置**1 min**，抽滤**5 min**。
12. 抽滤至**0.5 mL Deep Well Plate**中的质粒DNA可以直接用于下游应用。

购买须知

根据说明书使用时，本产品保证性能符合产品标示和倍沃文献中的描述。倍沃不提供任何其他类型的明示或暗示保证，包括但不限于适销性或特定用途适用性等。倍沃对违反本保证的唯一义务和购买者的唯一补救措施是由倍沃选择更换产品。倍沃对因使用产品、使用产品结果或无法使用产品而引起的任何直接、间接、后果性或附带损害不承担任何责任。如需技术支持或了解更多产品信息，请致电400-115-2855与我们联系，或访问我们的网站www.biomiga.com.cn。

