

酵母质粒小量提取试剂盒（磁珠法）

V202601

(BW-MYD1271)

产品简介

本试剂盒适用于酵母样本，其核心原理是利用磁珠与质粒DNA的可逆吸附作用，可在特定条件下实现DNA与磁珠的高效结合，同时去除蛋白质及其他杂质。核酸可通过无菌水或洗脱缓冲液轻松洗脱，纯化后DNA可用于酶切图谱分析、文库筛选、测序、基因治疗及基因接种等下游实验。本试剂盒可在1小时内纯化出高质量的质粒DNA。该方法是一种改良型碱裂解法，通过优化流程实现了基因组DNA的有效去除，已成功应用于酿酒酵母的质粒分离与纯化。本试剂盒可适配多种自动化核酸提取仪，例如奥盛 Auto-Pure 96A 全自动核酸提取仪。

试剂盒组成

Catalog#	BW-MYD1271- A96-10	BW-MYD1271- A96-11	BW-MYD1271- A96-12
Preps	1 x96	4 x 96	10 x 96
Buffer SE	30 mL	120 mL	300 mL
Buffer A1	20 mL	80 mL	200 mL
Buffer B1	20 mL	80 mL	200 mL
Buffer C1	20 mL	80 mL	200 mL
Lyticase solution	10 mL	40 mL	100 mL
RNase A (20mg/ml)	250 μ L	1 mL	2.4 mL
Binding Buffer	1	4	10
Buffer KB Buffer	1	4	10
DNA Wash buffer*	1*2	4*2	10*2
Grinding Beads	300	1200	3000
Elution Buffer	1	4	10
Plasmid-L Bead	1	4	10
Magnetic Rod Sleeve	1	4	10
User Manual	1	1	1

产品贮存及稳定性

本试剂盒自生产日期起，保质期为12个月。已添加RNase A的缓冲液A1需于4°C条件下保存，Lyticase（裂解酶）需于-20°C条件下保存，其余试剂及耗材可于室温（15-25°C）条件下保存。

使用前注意事项

- RNase A: 浓度为 20 mg/mL, 使用前需经瞬时离心处理后, 再添加至 A1 缓冲液中, 加入A1后需要存放于4°C。
- Buffer B1: 若出现沉淀, 可置于 37°C水浴加热使沉淀完全溶解, 直至溶液澄清。使用后务必将 Buffer B1的瓶盖拧紧。
- Plasmid-L Bead: 使用前需充分涡旋混匀。建议根据实际用量分装使用, 避免反复开盖和涡旋操作, 以防磁珠磁性减弱及磁珠碎片增多。
- DNA Wash Buffer: 封好的板装可直接使用, 瓶装使用前加入标示量体积的无水乙醇混匀使用。

使用前需准备的材料

- 异丙醇 (自备)
- β - 巯基乙醇 (自备)

操作步骤 (磁珠法)

1. 向 96 孔深孔板的孔中加入 1–1.3 mL配制好的培养基。
2. 从单菌落酵母菌株或预培养物中取样并接种至每个孔中并封好膜, 将培养板置于 30°C环境下振荡培养 24–36 小时。
3. 使用适配 96 孔板的离心机, 在5000×g 离心力下离心 5 分钟, 揭开封板膜, 去除深孔板内的培养基。将深孔板倒扣在吸水纸上轻拍, 彻底清除残留的培养基液滴。
(注意不要将菌流走)
4. 向孔中加入3颗玻璃珠与 50 μ L无菌水 (如担心溅出可贴封口膜), 最大转速涡旋振荡 10 分钟, 最终以观察悬浮彻底为准。再向板内加入 300 μ L SE 缓冲液与 100 μ L Lyticase solution, 重悬菌体, 最大转速涡旋振荡 1 分钟, 使酵母细胞充分悬浮 (菌体充分悬浮有助于提高产物得率)。随后30°C水浴 15 分钟或以上, 再以 5000×g 的离心力离心 5 分钟, 弃去上清液, 保留沉淀。

注: 使用前, 务必向 1 mL SE 缓冲液中加入 20 μ L β -巯基乙醇。该混合液可在室温下储存 1 个月。

5. 向每个孔中加入 200 μ L A1 缓冲液 (使用前需先向 A1 缓冲液中添加RNase A), 通过涡旋振荡或移液器吹打方式, 使酵母细胞沉淀完全重悬。
6. 向每个孔中加入 200 μ L B1 缓冲液, 上下颠倒或左右晃动离心管/深孔板 4-6 次, 混匀至获得澄清的裂解液。于室温条件下孵育 4 分钟。

注: 避免剧烈混匀, 否则会导致染色体 DNA 断裂, 进而影响质粒纯度。使用后请将 B1 缓冲液 (Buffer B1) 的瓶盖拧紧。

7. 向每个孔中加入 200 μ L C1 缓冲液, 混匀数次, 溶液中会出现白色悬浮沉淀; 随后于室温条件下, 以 12000×g 的离心力离心 10 分钟。
8. 将上清液转移至结合板中 (操作时避免吸入沉淀), 向结合板各孔内的澄清裂解液

中加入总体积一半量的异丙醇。

- 根据下表 1，取封好的96 孔深孔板。若试剂盒未预装相关试剂，则需自行添加（每孔试剂总体积不得超过 1000 μL ）。

表1. 96孔板设置

96孔板编号	对应仪器板位	样本/试剂	体积(μL)	预分装版试剂盒说明
Banding	1	预处理裂解液	需用户自行加入	尽量取澄清的裂解液，并加入异丙醇进行混合。
		异丙醇	需用户自行加入	
Beads	2	Plasmid-L Beads	25	已分装，无需用户自行加入
		磁珠保存液(或 ddH ₂ O)	75	已分装，无需用户自行加入
		磁棒套	/	/
Wash 1	3	Buffer MKB	500	已分装，无需用户自行加入
Wash 2	4	DNA Wash Buffer	600	已分装，无需用户自行加入
Wash 3	5	DNA Wash Buffer	600	已分装，无需用户自行加入
Elution	8	Elution Buffer	60	已分装，无需用户自行加入

- 启动仪器，将全新洁净的磁棒套装入仪器内，随后将 96 孔板放入仪器对应位置，与磁棒套精准对位。运行预设程序（详见表 2）。

- 程序运行结束后收集产物。取出 96 孔板，置于-20 $^{\circ}\text{C}$ 或-80 $^{\circ}\text{C}$ 条件下保存。

表2.提取程序（奥盛 Auto-Pure 96A：仅供参考，可根据实验自行调整）

步骤	名称	板位	混合时间 (min)	混合幅度 (%)	等待时间 (min)	容积 (μL)	混合速度 (1-10)	温度 ($^{\circ}\text{C}$)	吸磁段数 (0-5)	循环次数 (1-10)	吸磁速度 (1-10)	第一段吸磁时间(s)	第二段吸磁时间(s)	第三段吸磁时间(s)	第四段吸磁时间(s)	第五段吸磁时间(s)	液面停留 (0-30 s)
1	Load	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	Beads	2	0	80	0	100	1	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
3	Banding	1	5	80	0	530	5	OFF	3	2	1	1	1	1	-	-	0
4	Wash1	3	1	30	0	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
5	Wash2	4	1	30	0	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
6	Wash3	5	1	30	0.5	750	8	OFF	1	1	1	1	-	-	-	-	0
7	Elute	8	5	80	0	100	8	70	2	3	1	10	10	-	-	-	10
9	Unload	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Note: 设置升温动作同步；降温风扇关闭，降温动作同步。

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。

登录官方网站获取产品手册等更多信息：<http://www.beiwobiomedical.com/>

