

版本号: DP130227

TIANprep Yeast Plasmid DNA Kit

酵母质粒小提试剂盒

(离心柱型)

目录号: DP112

产品内容

产品组成	DP112-02 (50 preps)
BL (Buffer BL)	30 ml
YP1 (Buffer YP1)	15 ml
YP2 (Buffer YP2)	15 ml
YP3 (Buffer YP3)	20 ml
PD (Buffer PD)	30 ml
PW (Buffer PW)	15 ml
EB (Buffer EB)	15 ml
RNase A (10 mg/ml)	150 μ l
CP2 (Spin Columns CP2)	50
(2 ml) (Collection Tubes 2 ml)	50

储存条件

(15-25) , 12 ,
2-8 。 2-8 , ,
, 37 10 min, 。 YP1 RNase A ,
2-8 , 6 。 RNase A 12 。

产品简介

本产品是一种用于从总RNA中去除DNA的试剂。它含有RNase A和RNase H，能够高效地降解DNA。使用时，只需将总RNA与本产品混合，即可实现DNA的去除。本产品适用于各种类型的RNA，包括mRNA、rRNA和tRNA。使用后，剩余的RNA可用于下游的分子生物学实验，如RT-PCR、Northern blotting和RNA-seq等。

注意事项 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

1. YP1 培养基中不含RNase A（将试剂盒中提供的RNase A全部加入），使用前请加入RNase A，并孵育2-8小时。
2. 本产品适用于BL、YP2、YP3等培养基，使用前请加入RNase A，并孵育2-8小时。37°C孵育2-8小时。
3. YP2、YP3 培养基中不含RNase A，使用前请加入RNase A，并孵育2-8小时。
4. 本产品适用于各种类型的RNA，使用前请加入RNase A，并孵育2-8小时。12,000 rpm (~13,400× g)。
5. 本产品适用于各种类型的RNA，使用前请加入RNase A，并孵育2-8小时。
6. 本产品适用于各种类型的RNA，使用前请加入RNase A，并孵育2-8小时。
7. 本产品适用于各种类型的RNA，使用前请加入RNase A，并孵育2-8小时。

需要自备的试剂

- 1、Lyticase (TIANGEN, 货号: RT410)
 - 2、buffer: 0.1M Tris-HCl (pH7.4) 1.2 M NaCl ;
0.1M DTT (pH7.4) ;
77.4ml 0.1mol/L Na₂HPO₄+22.6ml 0.1mol/L NaH₂PO₄
-

操作步骤

使用前请先在漂洗液PW中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. : CP2 (吸附柱放入收集管中) 500 μ l BL, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 1 min, , 。 (请使用当天处理过的柱子)

2. 1-5 ml (不超过 5×10^7 酵母细胞) , 12,000 rpm (~13,400 \times g) 1 min, () 。

3. :

a、 : 300 μ l buffer, 50 U Lyticase, , 220 rpm, 30 1 h. 4000 rpm (~1500 \times g) 10 min, , 。 250 μ l YP1 (请先检查是否已加入RNase A) 。

注意：以上Lyticase的用量和处理时间为经验值，根据酵母菌株和酵母细胞数量的不同，所用Lyticase的浓度和孵育时间应该进行适当调整。

b、 : 250 μ l YP1 (请先检查是否已加入RNase A) , , 0.1g 0.45-0.55 mm , 10 min。

4. 250 μ l YP2, 6-8 , 5-10 min。

注意：温柔混匀，不要剧烈震荡，以免污染基因组DNA。此时菌液应变得清亮粘稠。

5. 350 μ l YP3, 6-8 , , 。 12,000 rpm (~13,400 \times g) 20 min。

注意：YP3加入后应立即混合，避免产生局部沉淀。如果上清中还有微小白色沉淀，可再次离心后取上清。

6. CP2 (吸附柱放入收集管中) , 12,000 rpm (~13,400 \times g) 1 min, , CP2 。

7. CP2 500 μ l PD, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 1 min, 。

-
8. CP2 600 μ l PW (请先检查是否已加入无水乙醇), 12,000 rpm (~13,400 \times g) 1 min, CP2。
 9. 8。
 10. CP2 12,000 rpm (~13,400 \times g) 2 min,。

注意：漂洗液中乙醇的残留会影响后续的酶反应（酶切、PCR等）实验。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，建议将吸附柱CP2开盖，置于室温放置数分钟，以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。

11. CP2, 50-100 μ l EB, 2 min, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 2 min。

注意：洗脱缓冲液体积不应少于50 μ l，体积过小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若后续做测序，需使用ddH₂O做洗脱液，并保证其pH值在7.0-8.5范围内，pH值低于7.0会降低洗脱效率。且DNA产物应保存在-20 $^{\circ}$ C，以防DNA降解。为了增加质粒的回收效率，可将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，再次离心。

补充说明

1. , :
1-5 μ l PCR。
5-10 μ l。
2. , TIANGEN
CB101 CB104。