

D3376 Yeast Plasmid Mini Kit

酵母质粒提取 常见问题及排除方法

1. 实验前检查试剂盒中的溶液是否有沉淀物析出，久置或低温都会让溶液析出沉淀，如有沉淀析出，需按照说明书提示：在 37°C 水浴至沉淀完全溶解。
2. 实验前，DNA Wash Buffer 必须按照说明书加入【无水乙醇】稀释备用。请开盖闻气味确认已加入醇类稀释。稀释错误或未稀释会导致 DNA 无法挂柱结合，致提取失败。
3. 吸取菌液时需将菌液彻底摇晃均匀，可避免取菌量不一导致提取结果不稳定。
4. 菌液培养时间不宜过长，对于高拷贝质粒用量不建议超过 5mL（低拷贝质粒不超过 10mL），如菌密度较大，需按照比例酌情增加 Buffer YP I、II、III 的用量，以免过载。
5. 离心收集菌体后，注意加入 Buffer SE、巯基乙醇和 lyticase solution 重悬，注意一定要将菌体彻底重悬孵育，否则可能会导致裂解不充分；在孵育时可根据酵母菌体的状态适当调整孵育时间，孵育时间不建议少于 30min。
6. 在加入 Buffer YP I/RNase A 和 glass beads 后，注意涡旋一定要将菌体彻底打散孵育，不要留下菌团，可对着光检查。如菌团未能彻底打散，则加入 Buffer YP II 后会无法彻底裂解，这是导致提取结果不稳定的关键因素之一。
7. 注意将混合液转移到 HiBind[®] DNA mini column 时不要转移到任何沉淀物，否则可能会造成堵柱，进而导致提取失败。
8. 注意不要省略空柱子离心步骤，该步骤能除去柱子中残留的乙醇，否则可能会影响下游实验。如产物点电泳时无法正常沉降，绝大部分情况下由于空甩不完全，乙醇残留所致，可在下次提取中，提高离心机速度或延长空甩时间至 5~10min，可解决残留问题。
9. 如产物浓度偏低，建议先将无菌去离子水（或 TE Buffer）在 65°C 预热后再加入柱子中洗脱，且建议进行第二次洗脱。洗脱方法：将第一次离心到离心管中的溶液重新吸回 HiBind[®] DNA Mini Column，室温等待 2-3min，再次离心。
10. 不要随意缩小说明书中的洗脱体积，过低的洗脱体积会大幅降低洗脱效率。
11. 注意酵母质粒拷贝数非常低，5mL 培养液的产量通常在 1 μ g 左右。

如按照上述步骤仍无法排查问题，请提供单位名称及试剂盒条形码（即盒外标签 Lot 开头数字字母组合）核验正品货源，添加技术支持 QQ: 800848200 获取更多信息。