

Lyticase 性能验证报告

测试项目 1：酵母 DNA 抽提检测

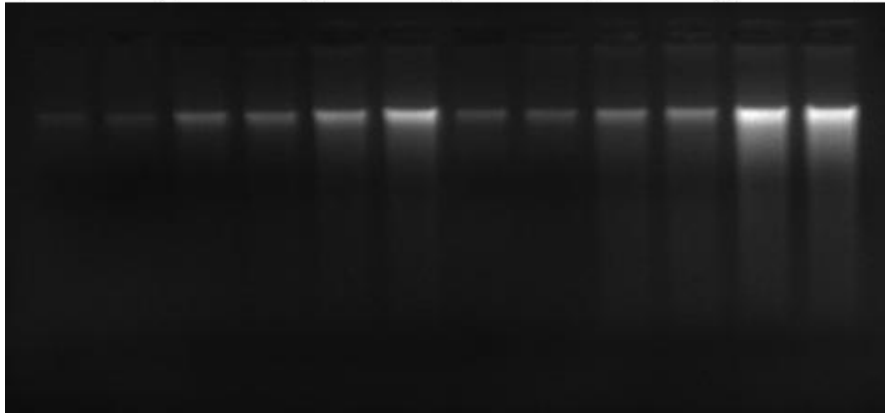
1. 按规范流程培养酵母。
2. 分别取 35ml 培养液于 2 个 50ml 离心管中，5,000 x g 离心 5 分钟收集酵母细胞，小心吸弃培养液。
3. 分别加入 2100 μ l Buffer SE，70 μ l 2-巯基乙醇至菌体中重悬，再混合成一管。
4. 取 12 个 2ml 离心管，分别加入 310 μ l 混合液；
5. 取 0、20 μ l、40 μ l Lyticase 至样品中，涡旋重悬菌体，37 $^{\circ}$ C 振荡温育 30 分钟/或 55 $^{\circ}$ C 振荡温育 30 分钟。
6. 13000 x g 离心 1 分钟收集酵母细胞，小心吸弃培养液。
7. 加入 250 μ l Buffer ATL 和 10 μ l Proteinase K 至沉淀中，涡旋重悬。于 55 度温育 10 分钟。
8. 加入 10 μ l RNase A 至样品中，室温放置 15 分钟。
9. 加入 250 μ l Buffer DL，涡旋，70 度温育 10 分钟。
10. 13000 x g 离心 1 分钟，取~500 μ l 上清液
11. 加入 250 μ l 无水乙醇，涡旋混匀。
12. 过 gDNA 柱，500 μ l GW1，600 μ l GW2 清洗。
13. 加入 50 μ l EB 进行洗脱。
14. 测浓度，跑电泳。

实验数据：

样品名称	酶量 (ul)	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
37 度-30min	0	35.15	1.76	2.02	1.62
		30.58	1.53	2.00	1.51
	20	43.32	2.17	2.00	1.61
		84.61	4.23	2.02	1.69
	40	70.77	3.54	1.92	0.86
		70.52	3.53	1.93	1.78
55 度-30min	0	45.65	2.28	2.02	1.47
		37.33	1.87	1.97	1.19
	20	48.40	2.42	1.92	1.39
		51.71	2.59	1.92	1.46
	40	71.98	3.60	1.92	1.55
		70.73	3.54	1.93	1.72

5ml酵母菌提取

37°C-30min			55°C-30min		
0ul	20ul	40ul	0ul	20ul	40ul



实验结论：

37°C与55°C消化酵母菌无较大差异，不加 Lyticase 提取产量低，加大 Lyticase 量可以使产量呈梯度上升。

测试项目 2：酵母 DNA 抽提检测

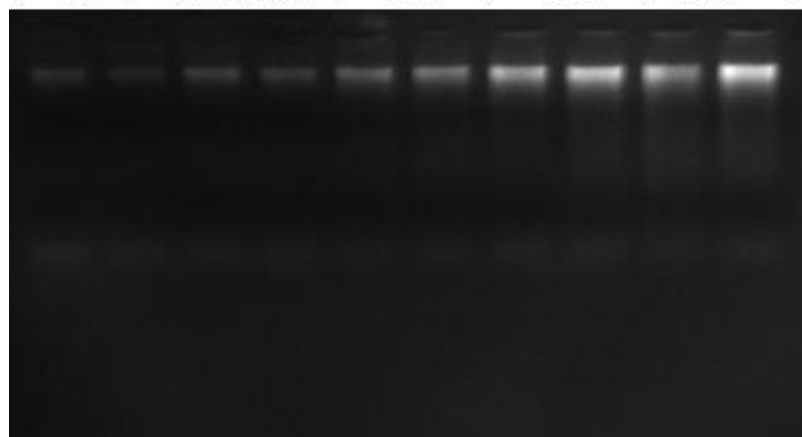
1. 按规范流程培养酵母。
2. 分别取 50ml 培养液于 50ml 离心管中，5,000 × g 离心 5 分钟收集酵母细胞，小心吸弃培养液。
3. 分别加入 3000ul Buffer SE，100ul 2-巯基乙醇至菌体中重悬，再混合成一管。
4. 取 10 个 2ml 离心管，分别加入 310ul 混合液；
5. 取 0、20ul、40ul、60ul Lyticase，0ul Lyticase+20~30mg 0.4-0.6mm 玻璃珠，至样品中，涡旋重悬菌体，37°C 振荡温育 30 分钟。
6. 13000 × g 离心 1 分钟收集酵母细胞，小心吸弃培养液。
7. 加入 250ul Buffer ATL 和 10ul Proteinase K 至沉淀中，涡旋重悬。于 65 度温育 10 分钟。
8. 加入 10ul RNase A 至样品中，室温放置 15 分钟。
9. 加入 250ul Buffer DL，涡旋，70 度温育 10 分钟。
10. 13000 × g 离心 1 分钟，取~500ul 上清液
11. 加入 250ul 无水乙醇，涡旋混匀。
12. 过 gDNA 柱，500ul GW1，600ul GW2 清洗。
13. 加入 50ul EB 进行洗脱。
14. 测浓度，跑电泳。

实验数据：

样品名称	核酸(ng/ul)	产量 (ug)	A260/A280	A260/A230
不加	57.46	2.87	2.06	1.74
	63.44	3.17	2.02	1.56
不加酶+20mg 玻璃珠	82.74	4.14	1.91	1.21
	68.51	3.43	2.03	1.62
20ul	72.24	3.61	1.85	1.05
	73.56	3.68	2.01	1.69
40ul	83.56	4.18	1.93	1.33
	87.34	4.37	2.00	1.69
60ul	64.07	3.20	1.87	1.24
	76.85	3.84	1.88	1.21

蜗牛酶测试

| 不加酶 || 加酶 |
| 空白 | 加玻璃珠 | 20ul | 40ul | 60ul |



实验结论：

不加 Lyticase 加玻璃珠组产量比空白组较高，加大 Lyticase 量可以使产量呈梯度上升，但在加到 60ul 时浓度比 40ul 组略低，即加 60ul 容易引起提取核酸不稳定；

从电泳图可看出，加大 Lyticase 量使电泳主条带亮度呈梯度上升；

加玻璃珠组亮度比加 20ul 组更暗。