

酵母基因组 DNA 提取试剂盒

Yeast Genomic DNA Kit

(离心柱型)

目录号: QYM10021A (50t), QYM10021B (200t)

产品内容

产品成分	QYM10021-50	QYM10021-200
Buffer GA	12 ml	50 ml
Buffer GB	12 ml	50 ml
Buffer WB1(concentrate)	13 ml	52 ml
Buffer WB2(concentrate)	15 ml	60 ml
Buffer EB	10 ml	30 ml
Proteinase K	1 ml	4 × 1 ml
Spin Column With Collection Tubes	50	200

自备试剂

山梨醇 Buffer、溶壁酶、无水乙醇、RNase A (可选)。

储存条件

蛋白酶 K 于-20°C, 其他组分室温 (15 ~ 25°C)

产品简介

本试剂盒适用于从酵母菌中制备高质量的基因组 DNA。独特的缓冲液 / 蛋白酶 K 体系能迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶, 然后基因组 DNA 在高盐状态下选择性吸附于硅基质膜上, 再通过快速的漂洗、离心步骤, 去除酵母细胞代谢物和蛋白等, 最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱下来。使用本试剂盒可获得高质量的酵母基因组 DNA, 可直接进行可直接进行 PCR、酶切和杂交等分子生物学实验。

产品特点

- 1.简便快速: 1 小时内可获得高纯度的基因组 DNA;
- 2.质量好: 可直接进行 PCR、酶切和杂交等分子生物学实验。

注意事项

1. 如 Buffer GA 和 Buffer GB 产生沉淀, 可在 56°C 水浴溶解;
2. 样品应避免反复冻融, 否则会导致提取的 DNA 片段小, 提取量下降;

3. 按要求在 Buffer WB2 中加入无水乙醇。

操作步骤

使用前请先在 Buffer WB1 和 WB2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取 1~5 ml 酵母培养物，室温 12,000 rpm 离心 1 min，弃上清。

(注意：根据菌液的浓度决定取液量，对于酿酒酵母，OD600 = 1.0 时，相当于 $1\sim 2 \times 10^7$ 细胞 /ml，最多不要超过 5×10^7 细胞)

2. 酵母细胞壁的去除了：向菌体中加入 600 ul Lyticase Working Buffer，使用前加入 β - 巯基乙醇，使其终浓度为 0.1%，并加入 5 ul Lyticase，充分混匀，30°C 处理 30 min。4000 rpm 离心 10 min，弃上清，收集沉淀。

(注意：以上为 5×10^7 细胞 Lyticase 用量，根据酵母的菌株和酵母细胞的数量不同，所用 Lyticase 的浓度和处理时间应进行适当调整)

3. 向沉淀中加入 200 ul Buffer GA，用枪头充分吹打或用涡旋振荡器充分悬浮。

4. 加入 20 ul 蛋白酶 K 溶液，充分混匀。

5. 加入 200 ul Buffer GB，充分混匀，70°C 放置 10 min，期间每隔一段时间震荡离心管，溶液变得清亮后短暂离心，以去除管盖内壁的水珠。

(注意：Buffer GB 加入时可能会产生白色沉淀，一般 70°C 时会消失，不影响后续实验，如溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取的 DNA 量少或者提取的 DNA 不纯)

6. 加入 200 ul 无水乙醇，充分震荡，此时可能会出现絮状沉淀，短暂离心以去除管盖内壁水珠。

7. 将一个 Spin Columns CG 放入 Collection Tubes 中，将上一步所得溶液和絮状沉淀转移到离心吸附柱中，12 000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中的废液。

8. 向吸附柱内加入 500 ul 的 Buffer WB1，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中滤液。

(注意：Buffer WB1 中含有乙醇，用后及时盖紧，以防乙醇挥发)

9. 向吸附柱内加入 500 ul Buffer WB2，室温 12,000 rpm 离心 30 sec，弃收集管中废液。

(注意：Buffer WB2 为浓缩液，按要求加入无水乙醇，用后及时盖紧，以防乙醇挥发)

10. 重复步骤 9 一次。

11. 室温 12,000 rpm 离心 2 min，甩干残留液体。

(注意：此步不能省略，否则残留乙醇会影响基因组 DNA 的后续使用)

12. 将离心吸附柱置于一个新的 1.5 ml 塑料离心管 (自备) 中，加入 50 ~ 200 ul Buffer EB，室温放置 2 min，10,000 rpm 离心 2 min，离心管底溶液即细菌基因组 DNA。

(注意：为增加洗脱效率，可将洗脱液 Buffer EB 在 60°C 预热。如需使用去离子水洗脱，可用 NaOH 调整其 pH 值在 7.0 - 8.5 之间，为了增加回收率，可将得到的溶液重新加入到吸附柱中，室温放置 2 min，再次离心收集)