

# 酵母基因组DNA提取试剂盒

产品货号: 26230

产品规格: 50T/100T

#### 产品简介:

本试剂盒采用可以特异性结合DNA的离心吸附柱和独特的缓冲液系统,提取酵母基因组DNA。离心吸附柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料,能够高效专一吸附DNA,可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的基因组DNA片段大,纯度高,质量稳定可靠。使用本试剂盒提取的基因组DNA可用于各种常规操作,包括酶切、PCR、文库构建、Southern杂交等实验。

### 产品组成:

试剂盒内容	50T	100T	保存条件
RNaseA	1ml	1ml×2	-20℃
蛋白酶K	1ml	1ml×2	-20℃
酵母破壁酶	1.25ml	1.25ml×2	-20℃
巯基还原剂	300 μ L	600 µ L	-20℃
山梨醇Buffer	25m1	50ml	室温
溶液A	10ml	20ml	室温
溶液B	10ml	20ml	室温
漂洗液	15ml	30ml	室温
洗脱液	15ml	30ml	室温
吸附柱	50个	100个	室温
收集管	50个	100个	室温

## 操作步骤 (仅供参考):

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇,加入体积请参照瓶体上的标签。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

- 1. 取酵母细胞不超过5×10<sup>7</sup> cell s), 12000rpm离心1min, 尽量吸除上清。
- 2. 酵母细胞壁的破除: 向酵母菌体中加入470ul山梨醇Buffer。充分悬浮菌体,加入25ul酵母破壁酶和5ul巯基还原剂,充分混匀。30℃处理 2h,期间可颠倒离心管混匀数次。
- 3. 12000rpm离心lmin, 弃上清, 收集沉淀。
- 4. 向沉淀中加入200ul溶液 , 充分悬浮沉淀, 向悬浮液中加入20ul的RNase A(10mg/ml), 充分颠倒混匀, 室温放置 10min。
- 5. 加入20ul的蛋白酶K(10mg/ml), 充分颠倒混匀。65℃水浴消化15-30min, 消化期间可颠倒离心管混匀数次, 直至样品消化完全为止。
- 6. 加入200ul溶液,再加入200ul无水乙醇,充分颠倒混匀,此时可能会出现絮状沉淀,不影响DNA的提取,可将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中,室温放置2min。
- 7. 12000rpm离心2min,弃废液,将吸附柱放入收集管中。
- 8. 向吸附柱中加入600ul漂洗液(使用前请先检查是否己加入无水乙醇)。12000rpm离心1min,弃废液,将吸附柱放入收集管中。
- 9. 向吸附柱中加入600ul漂洗液,12000rpm离心1min, 弃废液,将吸附柱放入收集管中。





- 10. 12000rpm离心2min,将吸附柱敞口置于室温或50℃温箱放置数分钟,目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 否则漂洗液中的乙醇会影响后续实验如酶切、PCR等。
- 11. 将吸附柱放入一个干净的离心管中,向吸附膜中央悬空滴加50-200ul经65℃水浴预热的洗脱液,室温放置5min, 12000rpm离心1min。
- 12. 离心所得洗脱液再加入吸附柱中,12000rpm离心2min,即可得到高质量的基因组DNA。

#### 注意事项:

- 样品应避免反复冻融,否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量下降。
- 2. 若试剂盒中的溶液出现沉淀,可在65℃水浴中重新溶解后再使用,不影响提取效果。
- 3. 如果实验中的离心步骤出现柱子堵塞的情况,可适当延长离心时间。
- 4. 洗脱缓冲液的体积最好不少于 50ul,体积过小会影响回收效率;洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响,若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围,pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率。 DNA 产物应保存在-20℃,以防 DNA 降解。
- 5. DNA 浓度及纯度检测:得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。 回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD<sub>260</sub>处有显著吸收峰,OD<sub>260</sub>值为 1.0 相当于大约 50 μ g/ml 双链 DNA、40 μ g/ml 单链 DNA。OD<sub>260</sub>/0D<sub>280</sub>比值应为 1.7-1.9,如果洗脱时不使用洗脱缓冲液,而使用去离子水,比值会偏低,因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值,但并不表示纯度低。

有效期: 室温干燥保存,复检期12个月,2~8℃保存时间更长。