

酵母基因组 DNA 提取试剂盒说明书

货号：AC11017

规格：50T/ 100T

保存：RNase A、蛋白酶K 于-20℃保存。其他室温(15℃-25℃) 干燥保存，复检期 12 个月，2℃-8℃保存时间更长。

试剂盒内容：	50T	100T	保存
RNase A	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	300μL	600μL	2-8℃
山梨醇 Buffer	25ml	50ml	RT
溶液 A	10ml	20ml	RT
溶液 B	10ml	20ml	RT
漂洗液	15ml	15ml×2	RT
洗脱液	15ml	30ml	RT
吸附柱	50 个	100 个	RT
收集管	50 个	100 个	RT

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。

操作步骤：

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 5×10^7 cells)，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 1-2h，期间可颠倒离心管混匀数次。
- 3、12000rpm 离心 1min，弃上清，收集沉淀。
- 4、向沉淀中加入 200ul 溶液 A，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 B，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已加入无水乙醇)。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 1 min， 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 1 min。
- 12、离心所得洗脱液再加入吸附柱中，12000rpm 离心 2 min，即可得到高质量的基因组 DNA。

注意事项：

- 1、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 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰，OD₂₆₀ 值为 1.0 相当于大约 50μg/ml 双链 DNA、40μg/ml 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 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。