



北京博凌科为生物科技有限公司

Beijing BLKW Biotechnology Co., Ltd.

Tel: 010-57158602/52872342/80773165 (Fax)

[Http://www.blkwbio.com/](http://www.blkwbio.com/)

E-mail: blkwbio@blkwbio.com

- ◆ 酵母基因组DNA提取试剂盒
 - ◆ 目录号 1428
 - ◆ 使用手册
 - ◆ 实验室使用，仅用于体外
-

❖ **试剂盒组成、储存、稳定性：**

| 试剂盒组成 | 保存 | 50 次 (142801) | 100 次 (142802) | 200 次 (142803) |
|---------|----|------------------|-------------------|-------------------|
| 酵母裂解液 | 室温 | 15 ml | 30 ml | 60 ml |
| 蛋白沉淀液 | 室温 | 5 ml | 10 ml | 20 ml |
| DNA 溶解液 | 室温 | 5 ml | 5 ml | 10 ml |

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项：

1. **环境温度低时**酵母裂解液中某些去污剂成份会析出**出现浑浊或者沉淀**，可在 37℃ 水浴加热几分钟，轻轻旋摇，即可恢复澄清，**不要剧烈摇晃**，以免形成过量的泡沫。
2. 蛋白沉淀液可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 水浴几分钟帮助重新溶解，**如果不能完全溶解，也不影响使用效果**，直接取用上层溶液即可。
3. 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧盖子。

❖ **产品介绍：**

本试剂盒用于快速的从酵母中提取基因组 DNA。在针对酵母细胞特点配制的酵母裂解液作用下，酵母细胞被裂解释放出基因组 DNA，然后蛋白沉淀液选择性沉淀去除蛋白，最后纯净的基因组 DNA 通过异丙醇沉淀并重溶解于 DNA 溶解液。

❖ **产品特点：**

1. 不需要使用有毒的苯酚、氯仿等试剂。
2. 快速，简捷，整个过程可在 1 个小时内完成。
3. 结果稳定，产量高（比离心柱型的产量高一倍以上），OD260/OD280 典型的比值达 1.7~1.9，长度可达 50Kb-150kb，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应以及文库构建。

❖ **操作步骤：（实验前请先阅读注意事项）**

1. 吸取 1.5ml 酵母培养物到一个 1.5ml 离心管； 12,000rpm 离心 2 分钟，尽可能弃上清，必要时可以用枪吸去。
2. 高速涡旋振荡，打散重悬酵母细胞团。
3. 加入 300 μ l 酵母裂解液，涡旋振荡混匀，或者用 1 毫升的枪头反复吹打混匀。

酵母细胞的重悬分散对下一步裂解非常重要，必须充分分散重悬。

4. 将裂解物放置在 70 $^{\circ}$ C 水浴 15-30 分钟。

如果产量低，可以适当提高水浴温度和延长水浴时间，中间可以涡旋振荡混匀几次帮助裂解。

5. 冰上至少 5 分钟使恢复到室温。
6. 在恢复到室温的裂解物内加入 100 μ l 蛋白沉淀液后，在**涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 20 秒**。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。**冰浴 5 分钟**。
7. 13,000rpm 离心 5-10 分钟。这时应该可以见到管底蛋白沉淀，也可能见到一些蛋白沉淀漂浮在液体表面。

8. 小心缓慢吸取上清到一个新的 1.5ml 离心管中，不要吸到沉淀。

吸取上清时，注意不要吸到管底的和漂浮在液体表面的蛋白沉淀。如果不小心将蛋白沉淀转入新的离心管中，可再次离心 2 分钟后取上清。

9. 加入等体积的室温异丙醇（约 400 μ l），颠倒 30 次混匀或者直到出现絮状 DNA 沉淀（或者白色浑浊沉淀）。

10. 12,000rpm 离心 1 分钟，在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块，倒弃上清。

11. 加入 1ml 70%乙醇，颠倒几次漂洗 DNA 沉淀，12,000rpm 离心 1 分钟，倒去上清（注意不要把 DNA 沉淀倒掉了），倒置后在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇，还可以用枪头小心吸掉管底沉淀周围和管壁的残留乙醇，空气晾干沉淀几分钟。
注意不要干燥过头，否则 DNA 极其难溶；也不能残留太多乙醇，否则乙醇可能抑制下游如酶切反应。

12. 加入 40 μ l DNA 溶解液重新水化溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65 $^{\circ}$ C 温育 30-60 分钟（不要超过一小时），也可以在室温或者 4 $^{\circ}$ C 放置过夜来重新水化 DNA。期间不时的轻弹管壁帮助重新水化 DNA。

13. 加入 10-15 μ l RNase A（10mg/ml），或者 1-2 μ l RNase A（100mg/ml）颠倒混匀，37 $^{\circ}$ C 温育 30-60 分钟去除残留 RNA。

该步骤主要作用为去除残留的 RNA，如果残留 RNA 多，可以适当延长时间。如果残留 RNA 不影响实验，可略去该步骤。如果残留的 RNA 酶可能影响实验，也可以用等体积酚/氯仿抽提去除，然后用标准的乙醇沉淀回收 DNA。

14. DNA 可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C，如果要长时间存放，可以放置在一 20 $^{\circ}$ C。