www.bioss.com.cn
sales@bioss.com.cn
techsupport@bioss.com.cn
400-901-9800

酵母基因组DNA提取试剂盒
Yeast Genomic DNA Extraction Kit

产品编号： C6209

保存条件： 室温干燥可保存一年，4℃保存可更长时间。

产品介绍： **产品简介**

本试剂盒适用于从酵母样品中提取高纯度的总 DNA，本品无需使用苯酚、氯仿等有机溶剂抽提，可获得最大为50 kb 的 DNA，同时对100 bp 的 DNA 片段也能有效的回收。本试剂盒采用优化的缓冲液体系使裂解液中的 DNA 高效结合在硅胶膜上，而其他污染物可流过膜，使用低盐缓冲液或水洗脱，即可获得高纯度的 DNA。提取的 DNA 可直接用于酶切、PCR、Real-Time PCR、文库构建、Southern Blot、分子标记等下游实验。

产品组份

Buffer GTL: 15 ml
Buffer GL: 15 ml
Buffer GW1 (concentrate): 13 ml
Buffer GW2 (concentrate): 15 ml
Buffer GE: 15 ml
Proteinase K: 25mg
Proteinase K Storage Buffer: 1.25ml
Lyticase Working Buffer: 30ml
Lyticase: 300μl
Glass Beads: 2g
Spin Columns DM With Collection Tubes: 50

自备试剂

无水乙醇，β-巯基乙醇。

实验准备

1. 向 Proteinase K 中加入 1.25 ml Proteinase K Storage Buffer 使其溶解，-20˚C 保存。配制好的 Proteinase K 勿长时间室温放置，避免反复冻融，以免影响其活性。
2. 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。对于有些细胞壁较厚以及在培养阶段会产生大量代谢物的酵母，建议在生长早期收集样品。
3. Lyticase Working Buffer 在使用前请加入β-巯基乙醇，使其终浓度为 0.1%。

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.

4. 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在 Buffer GW1 和 Buffer GW2 中加入无水乙醇。

5. 使用前请检查 Buffer GTL 和 Buffer GL 是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将 Buffer GTL 和 Buffer GL 于 65˚C 水浴重新溶解。

6. 如果下游实验对 RNA 污染比较敏感，可以在加入 Buffer GL 前加入 4 μl DNase-Free 的 RNase A（100 mg/ml）。

操作步骤

1. 取 1-5 ml 酵母培养物（最多不超过 5×10^7 个细胞，一般对于酿酒酵母 OD600=1.0 时，相当于 $1-2\times10^7$ 细胞/ml），12,000 rpm （~13,400×g）离心 1 分钟，收集菌体沉淀，尽量吸弃上清。

注意：菌液较多时，可以通过几次离心将菌体沉淀收集到一个离心管中。

2. 酵母细胞壁的去除：向菌体中加入 600 μl Lyticase Working Buffer（使用前检查是否加入β-巯基乙醇，使其终浓度为 0.1%），并加入 5 μl Lyticase，充分混匀。30˚C 处理 30 分钟。4,000 rpm（~1,500×g）离心 10 分钟，弃上清，收集沉淀。

注意：以上为 5×10^7 酵母细胞 Lyticase 用量，根据酵母的菌株和酵母细胞数量的不同，所用的 Lyticase 的浓度和孵育时间应该进行适当调整。

3. 向沉淀中加入 200 μl Buffer GTL，加入 40 mg 玻璃珠（Glass Beads），涡旋 5 分钟。

4. 加入 20 μl Proteinase K 混匀。55˚C 振荡水浴至细胞完全裂解。若无振荡水浴箱，温育期间每 20-30 分钟颠倒混匀一次。（一般不超过 1 小时细胞即可完全裂解）。

注意：如需去除 RNA，在上述步骤完成后加入 4 μl 100 mg/ml 的 RNase A 溶液。

5. 12,000 rpm 离心 5 分钟，小心吸取上清至新离心管中。

6. 加入 200 μl Buffer GL，充分混匀。70˚C 孵育 10 分钟，其间颠倒混匀数次，12,000 rpm 离心 5 分钟，将上清移到一个新的离心管中。

注意：若孵育后溶液未变清亮，说明细胞裂解不彻底，可能导致提取 DNA 量少和提取的 DNA 不纯。

7. 加入 200 μl 无水乙醇，充分颠倒混匀，此时可能会出现絮状沉淀。短暂离心，使管壁和管盖上的液体集中到管底。

8. 将步骤 7 所得溶液和沉淀全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns DM）中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

9. 向吸附柱中加入 500 μl Buffer GW1（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

10. 向吸附柱中加入 500 μl Buffer GW2（使用前检查是否已加入无水乙醇），12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：如需进一步提高 DNA 纯度，可重复步骤 10。

11. 12,000 rpm 离心 2 分钟，倒掉收集管中废液。将吸附柱置于室温数分钟以彻底晾干。

12. 将吸附柱置于一个新的离心管（自备）中，向吸附柱的中间部位悬空加入 50-200

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.

μl Buffer GE 或灭菌水，室温放置 2-5 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟，收集 DNA 溶液，-20˚C 保存 DNA。

注意：

1）如果下游实验对 pH 值或 EDTA 敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的 pH 值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5（可以用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围），pH 值低于 7.0 时洗脱效率不高。

2）离心之前室温孵育 5 分钟可以增加产量。

3）用另外的 50-200 μl Buffer GE 或灭菌水再次洗脱可以增加产量。

4）如果要提高 DNA 的终浓度，可以将步骤 10 所得的 DNA 洗脱液重新加至吸附膜上，重复步骤 10；若洗脱体积小于 200 μl，可以增加 DNA 的终浓度，但可能会减少总产量。如果 DNA 量小于 1 μg，推荐用 50 μl Buffer GE 或灭菌水洗脱。

5）因为保存在水中的 DNA 会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用 Buffer GE 洗脱并于-20˚C 保存。

PRODUCT SPECIFIC PUBLICATIONS

[IF=4.6] Simon Wetzel. et al.Longitudinal dynamics of gut bacteriome and mycobiome interactions pre- and post-visceral surgery in Crohn’s disease.front cell infect microbiol.2024 Jan 15:13:1275405. DNA extraction ; . 38287975

Important Note: This product as supplied is intended for research use only, not for use in human, therapeutic or diagnostic applications.