

## 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°C
蛋白酶K	1ml	1ml×2	-20°C
酵母破壁酶	1.25ml	1.25ml×2	-20°C
巯基还原剂	300μL	600μL	2-8°C
山梨醇Buffer	25ml	50ml	室温
溶液A	10ml	20ml	室温
溶液B	10ml	20ml	室温
漂洗液	15ml	15ml×2	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 $5 \times 10^7$  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470μl山梨醇Buffer。充分悬浮菌体，加入25μl酵母破壁酶和5μl巯基还原剂，充分混匀。30°C处理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200μl溶液A，充分悬浮沉淀，向悬浮液中加入20μl的RNase A(10mg/ml)，充分颠倒混匀，室温放置10min。
5. 加入20μl的蛋白酶K(10mg/ml)，充分颠倒混匀。65°C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200μl溶液B，再加入200μl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600μl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。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

9. 向吸附柱中加入600 $\mu$ l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 $^{\circ}$ C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50-200 $\mu$ l经65 $^{\circ}$ C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：

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 $^{\circ}$ C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50 $\mu$ l，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 $^{\circ}$ C，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 $\mu$ g/ml双链DNA、40 $\mu$ g/ml单链DNA。OD<sub>260</sub>/OD<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 $^{\circ}$ C保存时间更长。



扫一扫 加微信

**上海尚宝生物科技有限公司**

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

<http://www.saint-bio.com>