**Imagene**®

Midi/Maxi Yeast DNA Kit

中量/大量酵母基因组 DNA 提取试剂盒(溶液型)

COLDUNX
RESEARCH & ANSWER MORE

FOR RESEARCH USE ONLY
NOT INTENDED FOR DIAGNOSTIC PURPOSES



# 中量/大量酵母基因组 DNA 提取试剂盒( 溶液型 ) 目录号 DE121

1/适用范围

2/试剂盒组成、储存、稳定性

3/储存事项

4/产品介绍

5/产品特点

6/操作步骤

# 使用说明书

网站: www.codonx.com 咨询电话: 010-56315162 技术支持 QQ: 3090544158 Tel: 010-56315162

#### 1/适用范围:

适用于快速提取各种酵母基因组DNA。

#### 2/试剂盒组成、储存、稳定性:

| 试剂盒组成      | 保存 | 10次 (DE121-01) |
|------------|----|----------------|
| 酵母裂解液 YS   | 室温 | 100ml x 2      |
| 蛋白沉淀液 PPS  | 室温 | 70 ml          |
| DNA 溶解液 DS | 室温 | 30 ml          |

本试剂盒在室温储存12个月不影响使用效果。

#### 3/储存事项:

- 环境温度低时酵母裂解液 YS 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。
- 蛋白沉淀液 PPS 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。

## 4/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。

# 5/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), $OD_{260}/OD_{280}$ 典型的比值达  $1.7\sim1.9$ ,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。

Tel: 010-56315162

### 6/操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

- 1. 吸取 60ml-70ml 酵母培养物到一个 100ml 离心管; 2,500 x g 离心 2 分钟, 尽可能 弃上清, 必要时候可以用枪吸去。
- 2. 高速涡旋振荡,打散重悬酵母细胞团。
- 3. 加入 20 ml 酵母裂解液 YS, 涡旋振荡混匀,或者用 1ml 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℃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 分钟使回复到室温。
- 6. 在回复到室温的裂解物内加入 6.8 ml 蛋白沉淀液 PPS 后,在**涡旋振荡器上高速连续振荡混匀 25 秒**。混匀后可能见到一些小的蛋白团块。**冰浴 5 分钟**。
- 7. 2,500 x g(可根据需要调整加大离心力)离心 5 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 100ml 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,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. 2,500 x g 离心 5 分钟(可根据需要调整加大离心力),在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块,倒弃上清。
- 11. 加入 20ml 70%乙醇,颠倒几次漂洗 DNA 沉淀, 2,500 x g 离心 2 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 1-3ml DNA 溶解液 DS 重新水化溶解 DNA 沉淀,轻弹管壁混匀,可以放置在 65℃温育 30-60 分钟(不要超过一小时),也可以在室温或者 4℃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 0.5-1ml RNase A(10mg/ml),颠倒混匀,37℃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,可以适当延长时间或者增加 RNase A 用量。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℃,如果要长时间存放,可以放置在-20℃。

