

Yeast DNA Extraction Mini Kit

酵母 DNA 小量提取试剂盒

本产品适合于从酵母细胞样品中提取基因组 DNA。试剂盒基于硅胶柱纯化技术，在高盐条件下特异性结合核酸，并有效去除杂蛋白等细胞中的杂质。操作简便，在 60 分钟内即可得到高纯度的酵母基因组 DNA。采用该产品提取得到的产物可直接用于 PCR、荧光定量等下游实验。

产品组份

产品编号	DNY357-01 (10 T)	DNY357-02 (50 T)	DNY357-03 (250 T)
DNA Extraction Mini Columns I	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
Buffer SL	6 ml	30 ml	150 ml
Buffer TL	5 ml	15 ml	75 ml
Buffer MBL	5 ml	15 ml	75 ml
Buffer W1A	4.4 ml	13 ml	66 ml
Buffer W2A	5 ml	15 ml	2×40 ml
Buffer EB	1.5 ml	10 ml	50 ml
RNase Solution	60 µl	300 µl	1.5 ml
Proteinase K	220 µl	1.1 ml	5.5 ml
Lyticase	350 µl	1.8 ml	8 ml
Glass Beads II	3 g	10 g	50 g

保存条件

本产品可在室温(15~25°C)保存 12 个月,长期保存时需置于 2-8°C。低温下, Buffer TL 及 Buffer W1A 可能会有沉淀形成,需 37°C 水浴让沉淀完全溶解。

准备事项

- Buffer W1A/W2A 使用前,须按瓶子标签所示,加入无水乙醇进行稀释。

实验步骤

1. 转移 2ml 酵母培养液至 2ml 离心管, 13,000 ×g 离心 1 min, 吸弃培养液(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. 加入 470μl Buffer SL, 10μl 2-巯基乙醇和 30μl Lyticase 至样品中, 涡旋重悬菌体, 30°C 振荡温育 30~60 分钟进行破壁。
3. 4500 rpm 离心 10 分钟收集酵母原生质体, 小心吸弃上清液。
4. 加入 250μl Buffer TL 和 20μl Proteinase K 至沉淀中, 涡旋重悬沉淀, 55°C 消化 10 分钟。
可在 55°C 消化前加入 120mg Glass Beads II 涡旋 3~5 分钟加强破壁效果, 进一步提高产量。若需去除 RNA, 加入 5μl RNase Solution 至消化液中, 室温放置 10 分钟彻底去除 RNA
5. 加入 250μl Buffer MBL, 涡旋混匀, 70°C 水浴 10 分钟。(由于样品及裂解液均为粘稠液体, 需要充分颠倒三四次后再进行涡旋才可使液体混成均一相, 涡旋时应产生涡流现象)
6. 13,000×g 离心 1min, 转移上清至新的离心管中, 加入 250μl 无水乙醇至上清液中, 涡旋混匀 15 秒。
7. 短暂离心收集管壁液滴, 把 DNA 柱装在收集管中。转移混合液(包括沉淀)至 DNA 结合柱中。13,000 x g 离心 60 秒。
8. 倒弃流出液, 把柱子重新装回收集管中。加入 500μl Buffer W1A(确认已加入无水乙醇)至柱子上。13,000 x g 离心 10 秒。

9. 倒弃滤液，把柱子重新装回收集管中。加入 600 μ l Buffer W2A(确认已加入无水乙醇)至柱子中，13,000 \times g 离心 10 秒。

10. 重复第 9 步一次

11. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000 \times g 离心 2 分钟干燥柱子。

该步骤去除 DNA 柱中残留的乙醇，乙醇残留会影响后续的酶促反应。当洗脱体积低于 50 μ l 时，该步骤结束后应打开 DNA 柱盖子于室温空气干燥 10 分钟后再进行洗脱，避免乙醇残留对酶促反应的影响。

12. 将柱子转移至 1.5ml 离心管。加入 30~100 μ l Buffer EB 至柱子膜中央。室温静置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。

柱子最小的洗脱体积是 30 μ l，若对产量要求较高，推荐进行第二次洗脱，将洗脱液重新加至柱子膜中央，室温静置 3 分钟，13,000 \times g 离心 1 分钟。

13. 弃去柱子，把 DNA 保存于-20 $^{\circ}$ C。

常见问题

1. DNA 产量低

- 基因 DNA 洗脱困难，延长洗脱时间并增加洗脱次数提高洗脱效率。
- 破壁步骤加入 2-巯基乙醇有利于提高产量
- 样品用量过多，减少样品用量。

2. 下游结果不理想

- **乙醇残留**：对于敏感应用，必须晾干 10 分钟后进行洗脱。
- **样品量过多**：超量样品导致纯度下降，减少样品用量。

3. 柱子堵塞

- **消化后存在沉淀**：MBL 消化后离心转移上清至新的离心管中进行后续操作。
- **加入 Buffer MBL 后，混匀不够**：由于样品及裂解液均为粘稠液体，需要充分颠倒三四次后再进行涡旋才可使液体混成均一相,涡旋时应产生涡流现象。