

酵母基因组DNA大量提取试剂盒

产品货号：26231

产品规格：10T

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：

试剂名称	10T
RNase A	1mL×5
蛋白酶 K	1mL×5
酵母破壁酶	1.25mL×5
巯基还原剂	1.5mL
山梨醇 Buffer	125mL
溶液 A	50mL
溶液 B	50mL
漂洗液	15mL×2
洗脱液	20mL
吸附柱	10 个
收集管	20 个

操作步骤：

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. 在离心管中收集酵母细胞 20-40mL(不超过 10^9 cells)，10000rpm 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 9mL 山梨醇 Buffer。充分悬浮菌体，加入 600 μ L 酵母破壁酶和 100 μ L 巯基还原剂，充分混匀。30 $^{\circ}$ C 处理 1-2h，期间可颠倒离心管混匀数次。
3. 10000rpm 离心 1min，弃上清，收集沉淀。
4. 向沉淀中加入 5mL 溶液 A，充分悬浮沉淀，向悬浮液中加入 500 μ L 的 RNase A(10mg/mL)，充分颠倒混匀，室温放置 10min。
5. 加入 500 μ L 的蛋白酶 K(10mg/mL)，充分颠倒混匀。65 $^{\circ}$ C 水浴消化 30-60min，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 5mL 溶液 B，再加入 5mL 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. 10000rpm 离心 2min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
8. 向吸附柱中加入 7mL 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇)。10000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。
9. 向吸附柱中加入 7mL 漂洗液，10000rpm 离心 1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

10. 10000rpm 离心 2min, 将吸附柱敞口置于室温或 50℃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 1-2mL 经 65℃水浴预热的洗脱液, 室温放置 5min, 10000rpm 离心 1min。
12. 离心所得洗脱液再加入吸附柱中, 10000rpm 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℃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 1mL, 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℃, 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 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰, OD₂₆₀ 值为 1.0 相当于大约 50μg/mL 双链 DNA、40μg/mL 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 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。

保存条件:

室温(15-25℃) 干燥保存, 复检期 12 个月, 2-8℃保存时间更长。



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com