

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 Preps)	DNY357-02 (50 Preps)	DNY357-03 (250 Preps)
DNA Extraction Mini Columns I	10	50	250
2ml Collection Tubes	10	50	250
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	2 ml	10 ml	50 ml
Proteinase K	220 µl	1.1 ml	5.5 ml
RNase Solution	60 µl	300 µl	1.4 ml
Glass Beads I	2 g	10 g	50 g

保存条件

本产品除 RNase Solution 外可在室温(15~25℃)保存 12 个月，长期保存时需置于 2-8℃。低温下，Buffer TL 及 Buffer W1A 可能会有沉淀形成，需 37℃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 酵母培养液至离心管中，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 300μl Buffer TL 和 20μl Proteinase K 及 150mg Glass Beads I 至离心管中，高速涡旋 5 分钟，55℃消化 10 分钟。
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
3. 加入 300μl Buffer MBL，涡旋混匀，70℃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）
4. 13,000×g 离心 1min，转移 500μl 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。
5. 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 × g 离心 60 秒。
6. 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 × g 离心 10 秒。
7. 倒弃滤液，把柱子重新装回收集管中。加入 600μl Buffer W2A(确认已加入无水乙醇)至柱子中，13,000 × g 离心 10 秒。
8. 重复第 7 步一次

9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。13,000 × 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。

10. 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 × 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 × g 离心 1 分钟。

11. 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。