

# M5 溶液型酵母基因组 DNA 中量/大量 提取试剂盒使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 溶液型酵母基因组 DNA 中量/大量提取试剂盒	10T	M664-01

## 【储存条件】

室温储存。

## 【产品简介】

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。

## 【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），OD260/OD280 典型的比值达 1.7~1.9，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。

## 【产品组份】

试剂盒组成	保存	10T
酵母裂解液	室温	100ml x 2
蛋白沉淀液	室温	70 ml
DNA 溶解液	室温	30 ml

1. 环境温度低时酵母裂解液中某些去污剂成份会析出出现浑浊或者沉淀，可在 37°C 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。
2. 蛋白沉淀液可能出现析出和沉淀，可以在 37°C 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。

**【操作步骤】**

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，涡旋振荡混匀，或者用 1 毫升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°C 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 溶解液重新水化溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65°C 温育 30-60 分钟（不要超过一小时），也可以在室温或者 4°C 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°C 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°C，如果要长时间存放，可以放置在 -20°C。

**【备注】**

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。