

版本号: FDI1228

## FinePure Yeast DNA Kit

### FinePure 酵母基因组柱式提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: FD303

**产品内容:**

产品组成	FD303 (50 preps)
Buffer DA	15 ml
Buffer DLT	15 ml
Buffer DW1	13 ml
Buffer DW2	12 ml
Buffer TB	15 ml
Proteinase K	1.2 ml
DNAPure Spin Columns	50 个
2 ml Collection Tubes	50 个
1.5 ml RNase Free Microcentrifuge Tubes	50 个

**储存条件:**

本试剂盒所有组分置于室温 (15-25°C) 干燥条件下, 可保存 12 个月。低温下 Buffer DA、DLT 和 DW1 可能会出现结晶或者沉淀, 如有结晶或者沉淀, 可在 37°C 水浴重新溶解, 溶解后混匀使用。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

---

## 产品简介:

本试剂盒适合从酵母细胞中快速简单地提取基因组 DNA，提取的基因组 DNA 片段大，纯度高，稳定性好，可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。提取过程无需酚氯仿抽提，酵母经溶壁酶去除细胞壁，裂解液和 Proteinase K 共同消化细胞，在优化的结合条件下可与 DNAPure Spin Columns 结合，经过快速充分的洗涤去除残留的蛋白质和盐分等杂质，最后 DNA 溶解于 Buffer TB 中。

## 注意事项:

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的 DNA 片段较小且提取量也下降。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明先在 Buffer DW1 和 Buffer DW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。
3. 使用前请检查 Buffer DA 和 Buffer DLT 是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将 Buffer DA 和 Buffer DLT 于 60°C 水浴重新溶解。

## 需要自备的试剂:

1. Lyticase
2. 山梨醇buffer: 用 0.1 M 磷酸钠缓冲液 (pH7.4) 配制 1.2 M 山梨醇;  
0.1 M 磷酸钠缓冲液 (pH7.4) 的配制:  
77.4 ml 0.1 mol/L  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  + 22.6 ml 0.1 mol/L  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$

## 操作步骤:

使用前请先在 Buffer DW1 和 Buffer DW2 中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶上的标签。

1. 取酵母细胞 (最多不超过  $5 \times 10^7$  cells)，12,000 rpm 离心 1 min，尽量吸除上清 (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. 酵母细胞壁的破除:  
酶法: 加入 600  $\mu\text{l}$  山梨醇 buffer 和大约 50 U Lyticase (客户自备) 到菌体，充分混匀。  
30°C 处理 30 min。4,000 rpm 离心 10 min，弃上清，收集沉淀。  
**注意: 以上为  $5 \times 10^7$  酵母细胞的 Lyticase 用量，根据酵母的菌株和酵母细胞数量的不同，所用 Lyticase 的浓度和孵育时间应进行适当调整。**
3. 加入 200  $\mu\text{l}$  Buffer DA 到沉淀中重悬沉淀，充分混匀。

---

4. **(可选)** 如果需要去除 RNA, 可加入 6  $\mu$ l RNase A (10 mg/ml) 溶液, 振荡混匀, 室温放置 5 min。

5. 加入 20  $\mu$ l Proteinase K, 涡旋振荡混匀, 再加入 220  $\mu$ l Buffer DLT, 充分颠倒混匀, 70°C 孵育 10 min, 短暂离心以收集管盖内壁上的溶液。

**注意:** 加入 Buffer DLT 时可能会产生白色沉淀, 一般 70°C 孵育时会消失, 不会影响后续实验。

6. 加入 220  $\mu$ l 无水乙醇, 混匀 (此时可能会出现沉淀), 将得到的溶液和沉淀一起转入吸附柱 DNAPure Spin Columns (吸附柱放在收集管中), 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃去滤液, 将吸附柱放回收集管中。

7. 加入 500  $\mu$ l Buffer DW1(使用前请先加入无水乙醇)至吸附柱, 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

8. 加入 500  $\mu$ l Buffer DW2(使用前请先加入无水乙醇)至吸附柱, 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

9. 加入 500  $\mu$ l Buffer DW2(使用前请先加入无水乙醇)至吸附柱, 12,000 rpm 离心 30 sec, 弃废液, 将吸附柱放回收集管中。

10. 12,000 rpm 离心 3 min, 倒掉收集管中的废液。

11. 将吸附柱转入一个新的 1.5 ml 离心管中, 向吸附膜的中间部位悬空滴加 60-200  $\mu$ l Buffer TB, 室温放置 1 min, 12,000 rpm 离心 1 min, 得到 DNA 溶液。

**注意:** Buffer TB 体积不应少于 60  $\mu$ l, 体积过小影响回收效率。如用灭菌水做洗脱液应保证其 pH 值在 7.0-8.5 范围内(可用 NaOH 将水的 pH 值调到此范围)。DNA 溶液请于 -20°C 保存。