**酵母菌基因组DNA提取试剂盒**

**（离心柱型）**

**货号：KTSM2606**

**■ 产品简介：**

本试剂盒适用于从酵母中提取基因组DNA。结合先进的硅基质膜技术，能够专一的结合DNA，并最大限度去除酵母中杂蛋白及其他有机物。本产品无需乙醇沉淀，1小时内即可完成总DNA的提取，具有高效、快速、方便之特点。

**■ 主要成分**：

|  |  |
| --- | --- |
| **产品组成** | **KTSM2606（50次）** |
| 平衡液LB | 30 ml |
| 裂解液LK | 30 ml |
| 结合液LN | 60 ml |
| 漂洗液PW | 15 ml |
| 洗脱液EB | 15 ml |
| 蛋白酶K | 1 ml |
| 吸附柱C1（含2 ml收集管） | 50个 |

**■ 保存条件**：

室温（15-25℃）

**■ 自备试剂**：

无水乙醇，Lyticase

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 Na2HPO4+ 22.6 ml 0.1mol/L NaH2PO4）

**■ 注意事项：**

1． 应尽量选用新鲜培养酵母菌，保证DNA的完整性。  
2． 第一次使用前应按照试剂瓶标签说明在漂洗液PW中加入相应的无水乙醇。  
3． 若下游实验对RNA污染较敏感，可在65℃水浴孵育后加入10 µl浓度为10 mg/ml的 RNase A溶液。RNase A本试剂盒并未提供，如需要可单独向本公司订购。

**■ 操作步骤：**

1. 取酵母细胞（最多不超过5×107 cells），12,000 rpm离心1 min，尽量吸除上清。
2. 酵母细胞壁的破除：向菌体中加入600 µl山梨醇buffer，加入大约50 U Lyticase，充分混匀。30℃处理30 min。4000 rpm离心10 min，弃上清，收集沉淀。
3. 加入20µl蛋白酶k，500 µl裂解液LK，吹悬沉淀。
4. 将离心管置于65~70℃水浴15 min，其间颠倒离心管混匀样品数次。  
   **注：如需去除RNA，可在上述步骤中，加入20 µl浓度为10 mg/ml的 RNase A 溶液。**
5. 加入2倍体积的结合液LN，充分混匀。
6. 柱平衡：向吸附柱C1中加入500 µl平衡液LB，12,000rpm离心1 min，弃收集管中滤液，将吸附柱放入收集管中。
7. 将混匀的液体转入吸附柱C1中，12,000 rpm离心30 sec，弃掉废液。（吸附柱容积约为800 µl左右，可分次加入离心。）
8. 向吸附柱C1中加入600 µl漂洗液PW（**使用前请先检查是否已加入无水乙醇**），12,000 rpm离心30 sec，倒掉废液，将吸附柱C1放入收集管中。
9. 重复操作步骤8。
10. 空柱12,000 rpm离心2 min。室温放置5-10 min，除去残留乙醇。  
    **注：漂洗液中的乙醇会影响后续酶促反映，此处应尽量晾干残留的漂洗液。**

将吸附柱放入一个干净的离心管中，在吸附膜的中间部位滴加50-100 µl洗脱缓EB，室温放置1 min，12,000 rpm离心2 min洗脱DNA，可立即用于下游分子生物学实验或-20℃保存。  
**注：将洗脱得到的溶液重新加入吸附柱中，重复步骤11可增加DNA得率。若后续实验对pH、EDTA敏感，需使用ddH2O做洗脱液。**