

Version: AA 3.2 (2021.04.01修订)

SPARKclassic Yeast DNA Kit

酵母基因组DNA提取试剂盒

(溶液型)

目录号: AA0302

01/产品组分

序号	组分	10 次 AA0302
1	酵母裂解液	100 mL×2
2	蛋白沉淀液	70 mL
3	DNA 溶解液	30 mL

02/保存条件

所有组分均室温（15-25℃）保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于从酵母中快速提取基因组 DNA，可在 1 h 内完成单个或多个样本的提取工作。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新溶于 DNA 溶解液。

04/自备材料

异丙醇、70%乙醇、RNase A

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

◇ 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℃ 水浴加热帮助恢复澄清，不要剧烈摇晃，以免形成

过量的泡沫。

- ◇ 蛋白沉淀液可能出现析出和沉淀，可以在 37℃ 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，直接取用上层溶液即可。
- ◇ 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瓶盖。

06/使用方案

1. 吸取60-70 mL酵母培养物到一个100 mL离心管，2,500×g离心2 min，弃上清，必要时可用移液器吸去。
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，涡旋振荡或用移液器反复吹打至彻底混匀。
 - ▲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. 将裂解物放在70℃水浴15-30 min。
 - ▲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. 冰上放置至少5 min，使其恢复至室温。
6. 向裂解物中加入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 s。混匀后可能见到一些小的蛋白团块，冰浴5 min。
7. 2,500×g（可根据需要调整加大离心力）离心5 min。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. 小心取上清到一个新的100 mL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 min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×g离心5 min（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，弃上清。
11. 加入20 mL 70%乙醇，颠倒几次漂洗DNA沉淀，2,500×g离心2 min，弃上清（注意不要把DNA沉淀倒掉），倒置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极难溶；也不能残留太多乙醇，否则乙醇可能抑制下游反应。
12. 加入1-3 mL 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℃温育30-60 min（不要超过1 h），期间不时的轻弹管壁帮助重新水化DNA。也可以在室温或者4℃放置过夜来重新水化DNA。
13. 加入0.5-1 mL RNase A（10 mg/mL），颠倒混匀，37℃温育30-60 min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℃，如果要长时间存放，可以放置在-20℃。

07/流程简图



收集菌体: 60-70 mL 酵母培养物

2,500×g 离心 2 min, 弃培养液



裂解: 20 mL **酵母裂解液**

70°C 水浴 15-30 min, 冰上至少 5 min



去蛋白: 6.8 mL **蛋白沉淀液**, 涡旋振荡 25 s, 冰浴 5 min

25,00×g 离心 5 min, 吸上清



DNA 沉淀: 等体积的室温异丙醇, 25,00×g 离心 5 min, 弃上清



去盐离子: 20 mL 70% 乙醇, 2,500×g 离心 2 min



DNA 溶解: 1-3 mL **DNA 溶解液**, 65°C 30-60 min 或 4°C 过夜

0.5-1 mL RNase A (10 mg/mL), 37°C 温育 30-60 min (可选)

长期储存 -20°C



08/相关产品

AA1904-A RNase A (10 mg/mL)

AA1906 蛋白酶 K (10 mg/mL)

AA0301 SPARKeasy 酵母基因组 DNA 快速提取试剂盒

AC0501 SPARKeasy 酵母 RNA 快速提取试剂盒 (含 Lytic Enzyme)

AD0401 SPARKeasy 酵母高纯质粒小量快速提取试剂盒 (含 Lytic Enzyme)

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: support@sparkjade.com

