

## 五、操作步骤

- a. 取酵母细胞(最多不超过  $5 \times 10^7$  个细胞)于离心管中,离心 12,000rpm 1 分钟收集菌体沉淀,用 600ul 山梨醇 Buffer 重悬沉淀。
- b. 加入 20mg 酶 B,充分混匀溶解,55℃水浴 45-60 分钟。
- c. 4,000 rpm 离心 5 分钟,弃上清,而后再用 200ul PBS 溶液重悬沉淀。
- d. 加入 20-30ul 的蛋白酶 k(20mg/ml)和 220ul 结合液 CB,充分颠倒混匀后,70℃水浴 10 分钟,直到溶液变清亮,水浴期间多次颠倒混匀离心管。
- e. 加入 220ul 的无水乙醇,充分混匀后,12000rpm 离心 1 分钟,将上清加入到吸附柱 AC 中,静置 1 分钟,12,000 rpm 离心 1 分钟,弃废液。
- f. 加入 500ul 抑制物去除液 IR,12,000 rpm 离心 30 秒,弃废液。
- g. 加入 700ul 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!),12,000 rpm 离心 30 秒,弃掉废液。
- h. 加入 500ul 漂洗液 WB,12,000 rpm 离心 30 秒,弃掉废液。
- i. 将吸附柱 AC 放回空收集管中,13,000 rpm 离心 2 分钟,尽量除去漂洗液,以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
- j. 取出吸附柱 AC,放入一个干净的离心管中,在吸附膜的中间部位加 50ul 洗脱缓冲液 EB(洗脱缓冲液事先在 65℃水浴中预热),室温放置 3-5 分钟,12,000 rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中,室温放置 2 分钟,12,000 rpm 离心 1 分钟。

## 目 录

一、试剂盒组成、储存、稳定性.....	1
二、原理简介.....	2
三、试剂盒特点.....	2
四、注意事项.....	2
五、操作步骤.....	3

## 一、试剂盒组成、储存、稳定性

试剂盒组成	保存	50 次 (DP6201)	100 次 (DP6202)
酶 B	-20℃	1000mg	2000mg
蛋白酶 k	-20℃	1.5ml	3ml
结合液 CB	室温	15 ml	30 ml
抑制物去除液 IR	室温	25 ml	50 ml
漂洗液 WB	室温	15 ml	25 ml
洗脱缓冲液 EB	室温	5 ml	10 ml
吸附柱 AC	室温	50 个	100 个
收集管 (2ml)	室温	50 个	100 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

### 注意事项

1. 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。
2. 山梨醇 buffer：  
用 0.1M 磷酸钠缓冲液(pH7.4)配制 1.2 M 山梨醇（4℃保存）；  
0.1M 磷酸钠缓冲液(pH7.4)的配制：  
77.4ml 0.1mol/L Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>+22.6ml 0.1mol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

## 二、原理简介

独特的抽提和裂解体系迅速裂解酵母和真菌细胞（壁）和灭活细胞内核酸酶，不需要借助玻璃珠破壁，有效保证了基因组 DNA 的完整性，用本试剂盒快速简便提取基因组 DNA 纯度极高，适合做 PCR 等下游反应。

## 三、试剂盒特点

1. 不需要另外购买昂贵的破壁酶，本试剂盒免费提供。
2. 兼容性强，适用于各种不同的酵母、真菌。
3. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
4. 快速，简捷，裂解后单个样品操作提取时间一般可在 30 分钟内完成。
5. 高纯度，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 典型的比值达 1.7~1.9，长度可达 50kb 以上，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应。
6. 产量高，3ml 指数生长期的酵母培养液可提取 15-30ug 高质量的 DNA。

## 四、注意事项（实验前必须首先阅读这部分！）

1. 所有的离心步骤均可在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机，如 Eppendorf 5415C 或者类似离心机。