

# Yeast DNAiso Kit (酵母基因组 DNA 提取试剂盒)

TaKaRa Code : D9082

包装量 : 30 次量

## ●制品说明

Yeast DNAiso Kit是一种可以从酵母菌中高效抽提、精制基因组DNA的试剂盒。本试剂盒主要利用酵母菌破壁酶以及盐析法进行酵母菌DNA的提取。通过离心收集酵母菌细胞，加入GenTLE Yeast Solution A (含酵母细胞破壁酶)消化细胞壁，然后加入GenTLE Yeast Solution B使细胞裂解，添加GenTLE Yeast Solution C离心去除裂解液中的蛋白质等杂质，最后通过异丙醇沉淀获得酵母基因组DNA。

本试剂盒可以从 $1 \sim 2 \times 10^8$ 过夜培养的酵母菌中纯化得到 $4 \sim 10 \mu\text{g}$ 较为完整的(35~200 kbp)酵母菌基因组DNA。使用本试剂盒提取的酵母基因组DNA适合于大部分基因工程实验，如Southern blotting、PCR反应、限制酶消化等。

## ●制品内容 (30 次量)

组份名称	包装量
1. GenTLE Yeast Solution A * 1	15 ml
2. GenTLE Yeast Solution B * 2	3 ml
3. GenTLE Yeast Solution C	6 ml
4. TE Buffer	6 ml

\*1: GenTLE Yeast Solution A中含有酵母细胞破壁酶，避免剧烈震荡或其他不正当操作使酶失活。

\*2: 如果 GenTLE Yeast Solution B 出现沉淀，可于 37°C 温浴使其完全溶解后使用。

### 【试剂盒之外所需准备的设备和试剂】

- ◆ 离心机
- ◆ 37°C 恒温水浴
- ◆ 70°C 恒温水浴
- ◆ 异丙醇
- ◆ 70% 乙醇

## ●保存温度

4°C 保存。

GenTLE Yeast Solution B 可以在室温保存。如果在低温保存后出现沉淀，可于 37°C 温浴使其完全溶解后使用。

## ●试剂盒的适用范围

本试剂盒主要利用GenTLE Yeast Solution A中的破壁酶对酵母细胞进行破壁后再进行基因组DNA的提取。如果提取的酵母菌对酵母破壁酶不敏感，就会造成DNA的提取量下降。因此，在实验之前，请参照下表来确认提取的酵母菌是否适合使用本试剂盒进行提取。本试剂盒能够提取的酵母菌的种类列举在下表的A和B栏中。

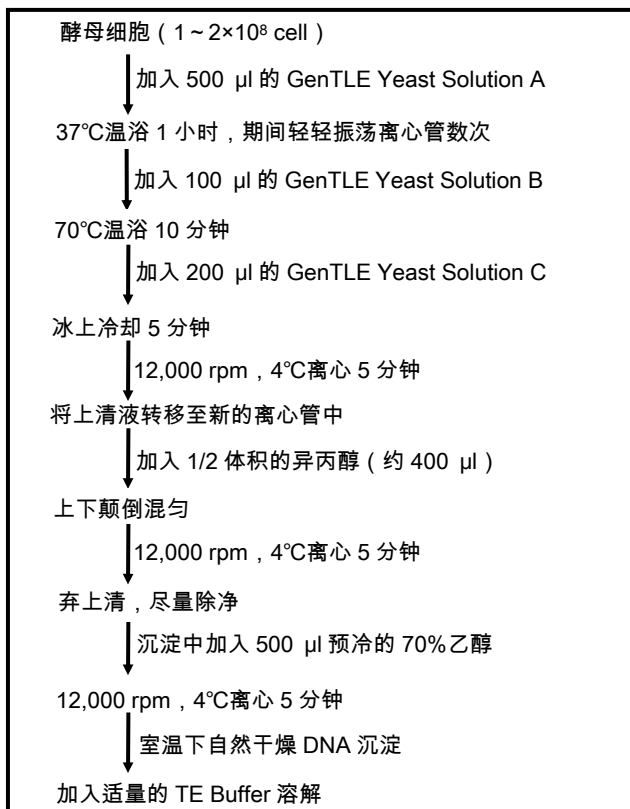
Yeast DNAiso Kit可提取酵母菌种 (属) 一览表

A	使用本试剂盒能够提取DNA的酵母菌种	<i>Ashbya</i> , <i>Candida</i> , <i>Debaryomyces</i> , <i>Endomyces</i> , <i>Eremothecium</i> , <i>Hanseniaspora</i> , <i>Hansenula</i> , <i>Kloeckera</i> , <i>Kluyveromyces</i> , <i>Lipomyces</i> , <i>Metschnikowia</i> , <i>Pullularia</i> , <i>Saccharomyces</i> , <i>Saccharomycopsis</i> , <i>Saccharomycodes</i> , <i>Schizosaccharomyces</i> , <i>Selenozyma</i> , <i>Trigonopsis</i> , <i>Wickerhamia</i>
B	使用本试剂盒能够提取,但个别株 (Strain) 提取困难的酵母菌种	<i>Bretanomyces</i> , <i>Cryptococcus</i> , <i>Nadsonia</i> , <i>Pichia</i> , <i>Rodosporidium</i> , <i>Schwanniomyces</i> , <i>Stephanoascus</i> , <i>Torulopsis</i>
C	使用本试剂盒不能提取DNA的酵母菌种	<i>Bullera</i> , <i>Pityrosporum</i> , <i>Rhosotorula</i> , <i>Sporidiobolus</i> , <i>Sporobolomyces</i> , <i>Stigmatomyces</i> , <i>Trichosporon</i>

## ●操作方法

1. 取含有 $1 \sim 2 \times 10^8$ 酵母菌的过夜培养液至1.5 ml Microtube 中，12,000 rpm离心1分钟。
2. 用微量移液器除去上清 (应尽量除净液体)。
3. 向沉淀中加入 500  $\mu\text{l}$  的 GenTLE Yeast Solution A，轻微振荡并充分悬浮沉淀，于 37°C 温浴 1 小时，期间轻轻振荡离心管数次。
4. 加入 100  $\mu\text{l}$  的 GenTLE Yeast Solution B，轻微振荡混匀后于 70°C 温浴 10 分钟。
5. 加入 200  $\mu\text{l}$  的 GenTLE Yeast Solution C，轻微振荡混匀后，冰上冷却 5 分钟。
6. 12,000 rpm，4°C 离心 5 分钟。
7. 小心将上清移入新的 1.5 ml 的 Microtube 中 (切勿吸取沉淀)。加入上清液 1/2 体积的异丙醇 (约 400  $\mu\text{l}$ )，上下颠倒离心管充分混匀。
8. 12,000 rpm，4°C 离心 5 分钟，弃上清。
9. 向沉淀中加入 500  $\mu\text{l}$  预冷的 70% 乙醇，轻轻上下颠倒洗涤沉淀，12,000 rpm，4°C 离心 5 分钟。
10. 用微量移液器移弃上清 (应尽量除净上清液)。
11. 室温下自然干燥 DNA 沉淀至无乙醇气味。
12. 加入适量的 TE Buffer 或其他溶解 Buffer 溶解基因组 DNA。

## ●DNA 提取操作流程图



## ●实验例

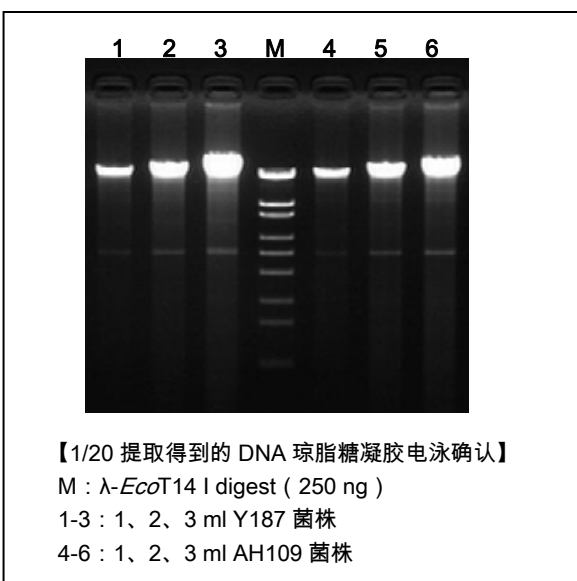
使用本试剂盒提取 *Saccharomyces cerevisiae* ( Y187 strain, AH109 strain ) DNA。

### [实验方法]

分别取 *S. cerevisiae* 两种菌株( Y187, AH109 )的培养液( YPD 培养,  $OD_{600} \approx 3.0$  ) 1 ml、2 ml、3 ml, 离心收集菌体, 按照试剂盒提供的标准操作方法进行酵母菌基因组 DNA 的提取。

### [实验结果]

提取得到的基因组 DNA  $OD_{260}/OD_{280} > 1.6$ 。随着菌体量的增大, 提取得到的基因组 DNA 量也按比例增加。



## ●Troubleshooting

1. 基因组DNA提取量较低怎么办？

① 提取时加入酵母菌数量过多。

如果提取时加入的酵母菌超过  $1 \sim 2 \times 10^8$ , 会造成 GenTLE Yeast Solution A 对细胞的破壁作用不充分, 从而造成基因组 DNA 收量下降。当一次提取的酵母菌超过  $1 \sim 2 \times 10^8$  时, 可以根据细胞数量的比例适当加大上述“操作方法”中的各 Buffer 的体积, 以达到最佳的提取效果。

② 提取时加入酵母菌数量过少。

如果提取时加入的酵母菌少于  $1 \sim 2 \times 10^8$ , 会造成提取的基因组 DNA 量明显减少。为了达到理想的提取效果, 我们建议按照标准操作方法加入酵母菌和各 Buffer。

③ 提取用的酵母菌菌株是本试剂盒不适用的菌株。

本试剂盒主要利用 GenTLE Yeast Solution A 中的破壁酶对酵母细胞进行破壁后再进行基因组 DNA 的提取。如果提取的酵母菌对酵母细胞破壁酶不敏感, 就会造成基因组 DNA 的提取量下降。因此, 在实验之前, 请参照“试剂盒的适用范围”表来确认提取的酵母菌是否适合使用本试剂盒提取。

④ 基因组DNA溶解不充分。

室温干燥的 DNA 不易溶解, 可加入适当的 TE Buffer 室温缓慢搅拌, 过夜溶解; 也可以在 65°C 温浴 1 小时溶解。

2. 提取的基因组DNA中含有RNA污染, 怎样处理？

利用本试剂盒提取的基因组 DNA 一般不会有 RNA 污染。如果因酵母菌种属或特殊培养条件的原因而造成提取的基因组 DNA 中含有 RNA 污染时, 可以使用 RNase 进行 RNA 消化处理。