

## 酵母菌 DNA 提取试剂盒

### E.Z.N.A.<sup>®</sup> Yeast DNA Kit

货号	D3370-00	D3370-01	D3370-02
反应次数	5 次	50 次	200 次
HiBind <sup>®</sup> DNA Mini Columns	5 个	50 个	200 个
2 mL Collection Tubes	10 个	100 个	400 个
YL Buffer	1.5 mL	15 mL	60 mL
YDL Buffer	1.5 mL	15 mL	60 mL
HBC Buffer	3 mL	25 mL	100 mL
DNA Wash Buffer	2 mL	15 mL	3 x 20 mL
Glass Beads	300 mg	3 g	12 g
Elution Buffer	5 mL	15 mL	60 mL
SE Buffer	3 mL	30 mL	120 mL
Lyticase	250 units	2,500 units	4 x 2,500 units
Proteinase K Solution	150 $\mu$ L	1.1 mL	4 x 1.1 mL
RNase A	30 $\mu$ L	275 $\mu$ L	1.1 mL
User Manual	✓	✓	✓

#### ★ 保存方式及稳定性

1. 按条件保存的试剂盒保质期为 24 个月（见盒外失效日期），所有组分均可常温运输；
2. Proteinase K Solution 室温可放置 12 个月，长期保存建议放置 2-8°C；
3. Lyticase 溶解后需要放置 -20°C 保存；
4. RNase A 长期保存放置 -20°C；
5. 当贮存温度较低时，YL Buffer 以及 YDL Buffer 易析出沉淀，请在使用前把整瓶试剂置于 37°C 中至沉淀完全溶解，充分混匀后再使用；
6. 本试剂盒仅限科学研究使用。

## ★ 实验前准备

1. 在 SE Buffer 中加入 2-巯基乙醇，每 1mL SE Buffer 加入 10  $\mu$ L 2-巯基乙醇。混合液可以放置室温一个月；
2. 按照下表加入 SE Buffer 制备 2,500 units/mL 的 Lyticase stock Solution。溶解后放置 -20°C 保存。

货号	SE Buffer 加入量
D3370-00	100 $\mu$ L
D3370-01	1 mL
D3370-02	1 mL (每管)

3. 按照下表提示，使用【无水乙醇】对 DNA Wash Buffer 进行稀释，使用【异丙醇】对 HBC Buffer 进行稀释，稀释后室温保存；

货号	DNA Wash Buffer 稀释	HBC Buffer 稀释
	无水乙醇 加入量	异丙醇 加入量
D3370-00	8 mL	1.2 mL
D3370-01	60 mL	10 mL
D3370-02	80 mL (每瓶)	40 mL

## 用户自备仪器及耗材：

- ✓ 离心转速可达 13,000xg 的小型离心机
- ✓ 无核酸酶的 1.5mL 离心管
- ✓ 无水乙醇、异丙醇、2-巯基乙醇
- ✓ 温度可达 55°C、65°C 的孵育装置
- ✓ 带标准接口的多头真空抽滤装置
- ✓ (可选) 3M NaOH

## ★ 提取步骤 —— 离心方案

1. 在 YPD 培养基中将酵母培养至 OD<sub>600</sub> 1.0；室温 4,000 xg 离心 10 min 收集  $\leq$  3ml ( $2 \times 10^7$ ) 酵母菌液，弃培养基；
2. 加入 480  $\mu$ L SE Buffer 和 20  $\mu$ L Lyticase Solution，涡旋重悬菌团；

**# 注意：**配制 Lyticase Solution 前，需按照第 2 页“实验前准备”第 1 条在 SE Buffer 中加入 2-巯基乙醇。

3. 30°C 孵育至少 30min，500xg 离心 10min 沉淀原生质体，弃上清；
4. 加 200  $\mu$ L YL Buffer，重悬沉淀团；
5. 加入 50 mg Glass Beads，涡旋 5min；
6. 加入 20  $\mu$ L Proteinase K Solution，涡旋混匀，55°C 孵育充分裂解细胞；  
**# 注意：**裂解时间通常不超过 1 小时，如果使用的水浴锅不带震动混匀功能，每隔 20-30min 对样品涡旋混匀一次。
7. 加入 5  $\mu$ L RNase A，颠倒混匀；室温放置 5min；  
**# 选做：**室温 10,000xg 离心 5min 去除不溶解的杂质，转移上清液到一干净的离心管中，小心注意不要打散转移到任何沉淀；
8. 加入 220  $\mu$ L YDL Buffer，涡旋混匀；65°C 孵育 10min；  
**# 注意：**加入 YDL Buffer 后可能会形成絮状沉淀，这不影响 DNA 的回收。
9. 加入 220  $\mu$ L 无水乙醇，涡旋彻底混匀；如果有沉淀团形成，用移液枪吸打 10 次打散沉淀；
10. 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Columns 套入收集管中；  
**# 可选柱平衡处理：**
  - 1) 往空 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 内加入 100 $\mu$ L 3M NaOH；
  - 2) 室温下 13,000xg 离心 30-60s，弃除滤液。
11. 转移第 9 步得到的混合液到结合柱中，室温 10,000xg 离心 1min，弃滤液及收集管；
12. 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Columns 套入新的收集管中，加入 500 $\mu$ L HBC Buffer（已加异丙醇正确稀释）至结合柱中，10,000xg 离心 1min，弃滤液；  
**# 注意：**HBC Buffer 在使用前必须按照说明书用异丙醇进行稀释。
13. 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Columns 套回收集管中，加入 700 $\mu$ L DNA Wash Buffer（已加无水乙醇正确稀释）至结合柱中，10,000xg 离心 1min，弃滤液；  
**# 注意：**DNA Wash Buffer 在使用前必须按照说明书用无水乙醇进行稀释。
14. 重复步骤 13 进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤；
15. 将 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Columns 套回收集管中，12,000xg 离心空甩 2min。

16. 将 HiBind DNA Mini Columns 套入新的 1.5mL 离心管中，加入 50-100  $\mu$ L 65°C 预热的 Elution Buffer 至结合柱中，室温放置 3-5min，然后 10,000xg 离心 1min 洗脱 DNA；
17. 重复步骤 16 进行二次洗脱，产物放置 -20°C 保存。  
**# 注意：**以下操作可以用来帮助提高 DNA 产量。
  - 加入 Elution Buffer 后，孵育 5min。
  - 增加 Elution Buffer 的洗脱体积。
  - 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱（可以提高产量，但是会降低浓度）。
  - 可以把第一次洗脱的产物重复加到结合柱上进行二次洗脱（这可能会增加产量，同时不增加洗脱体积）。

## ★ 提取步骤 —— 真空抽滤方案

1. 按照第 2-3 页“离心方案”的步骤 1-9 准备好裂解结合液；
2. 按英文使用说明准备好真空抽滤器，把 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 连接到抽滤器；  
**# 可选柱平衡处理：**
  - 1) 往空 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 内加入 100 $\mu$ L 3M NaOH；
  - 2) 用真空抽滤让 NaOH 通过结合柱。
3. 转移裂解结合液到 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 中，小心不要超过结合柱的容积（700 $\mu$ L），用真空抽滤让裂解液通过结合柱，转移剩下的裂解液到结合柱，抽滤，直到所有的裂解液都通过结合柱；
4. 加 500 $\mu$ L HBC Buffer（已加异丙醇稀释）到 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column，抽滤让液体流过结合柱；
5. 洗涤结合柱：加 700 $\mu$ L DNA Wash Buffer（已加无水乙醇稀释），抽滤；
6. 重复步骤 5，进行第二次 DNA Wash Buffer 洗涤；
7. 弃去滤液，把 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 重新装回收集管，最大速度离心空柱 2min 以甩干结合柱基质；
8. 把 HiBind<sup>®</sup> DNA Mini Column 装在干净的 1.5mL 离心管上，加入 50-100 $\mu$ L

Elution Buffer 到结合柱基质中, 静置 2min, 13,000xg 离心 1min 洗脱出 DNA;

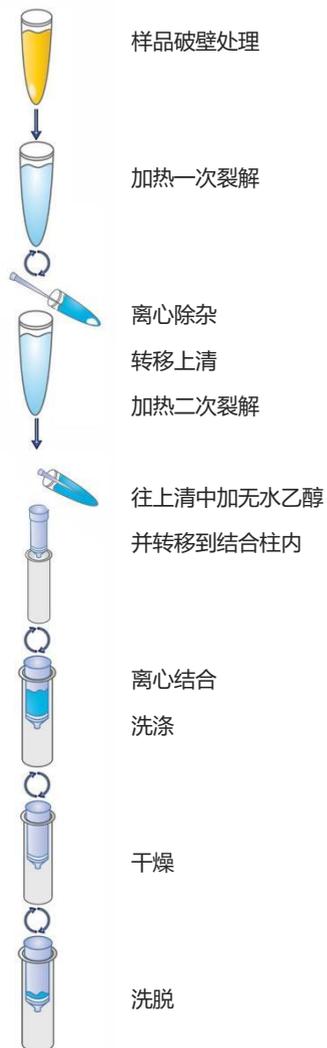
# **注意:** 以下操作可以用来帮助提高 DNA 产量。

- 加入 Elution Buffer 后, 孵育 5min。
- 增加 Elution Buffer 的洗脱体积。
- 用新的 Elution Buffer 进行二次洗脱 (可以提高产量, 但是会降低浓度)。
- 可以把第一次洗脱的产物重复加到结合柱上进行二次洗脱 (这可能会增加产量, 同时不增加洗脱体积)。

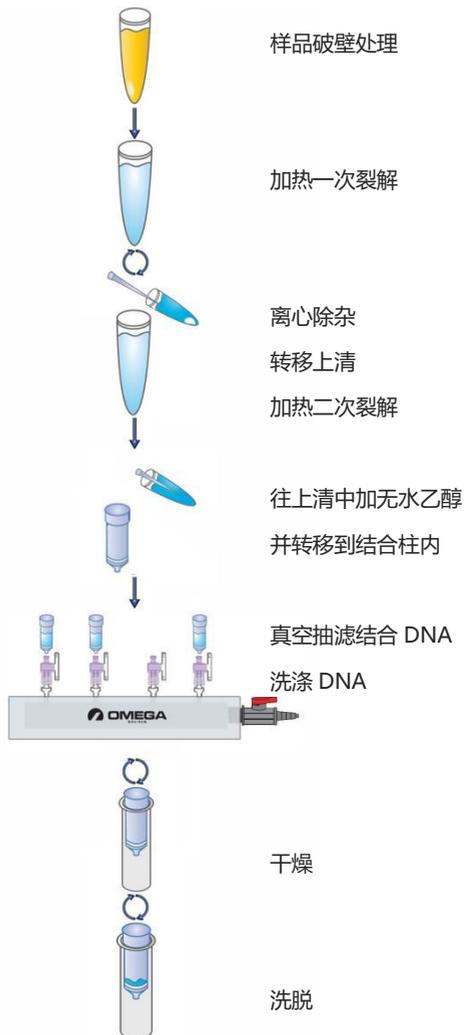
9. 将洗脱的 DNA 保存在-20°C。

## ★ 提取步骤示意图

### 离心操作流程



### 真空抽滤操作流程





## ★ 产品信息卡



更多详情, 请扫描左方二维码获取原文说明书

中文翻译仅供辅助阅读



常见问题合集及操作注意事项

请扫描左方二维码获取



中国总代理: 广州飞扬生物工程有限公司

技术支持: 020-32051125

企业 QQ: 800848200 (人工客服在线)

中文网站: [omegabiotek.com.cn](http://omegabiotek.com.cn)

如需查询代理商名录, 请关注“飞扬生物”微信号获取



### 售后保障服务说明

为确保您所使用的试剂为正品来源, 请从使用单位所在地指定代理商处购买 Omega bio-tek 产品。由其他渠道购买或任一标签信息(应包括货号、条形码、完整 Lot 号、失效日期)缺失的试剂盒, 我司恕不提供任何质量保证及售后服务。