

Code No. 9082

研究用

---

**TaKaRa**

Dr. GenTLE™ (from Yeast)  
High Recovery

---

说明书

# 目 录

内 容	页 码
● 制品说明	1
● 制品内容	1
● 试剂盒之外必备主要仪器和试剂	1
● 保 存	1
● 操作方法	2
● 操作流程图	2
● 实验例	2
● Troubleshooting	3

## ● 制品说明

Dr. GenTLE (from Yeast) High Recovery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Zymolyase-100T）消化细胞壁，然后加入GenTLE Yeast Solution B使细胞裂解，添加GenTLE Yeast Solution C盐析、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。

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、限制性酶消化等。适用酵母菌种如下表A和B所示。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（ $35\sim 200 \text{ kb}$ ）酵母菌基因组DNA。

使用 Dr. GenTLE (from Yeast) High Recovery 可提取DNA的酵母菌种（属）一览表

A	能够提取DNA的酵母菌种	<i>Ashbya, Candida, Debaryomyces, Endomyces, Eremothecium, Hanseniaspora, Hansenula, Klöeckera, Kluyveromyces, Lipomyces, Metschikowia, Pullularia Saccharomyces, Saccharomycopsis, Saccharomycodes, Schizosaccharomyces, Selenozyma, Trigonopsis, Wickerhamia</i>
B	能够提取，但个别株（Strain）提取困难的酵母菌种	<i>Bretanomyces, Cryptococcus, Nadsonia, Pichia, Rodosporidium, Schwanniomyces, Stephnoascus, Torulopsis</i>
C	提取困难的酵母菌种	<i>Bullera, Pityrosporum, Rhosotorula, Sporidiobolus, Sporobolomyces, Stetigmatomyces, Trichosporon</i>

## ● 制品内容

1. GenTLE Yeast Solution A<sup>\*1, 2</sup> 15 ml
2. GenTLE Yeast Solution B<sup>\*3</sup> 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，避免剧烈振荡或其他不正当操作使酶失活。

\*2 据报道，GenTLE Yeast Solution A 中作为酵母细胞破壁酶的 Zymolyase-100T 含有少量真菌 DNA\*。

\*: Jpn. J. Med. Mycol. (2009), 50, No. 4, 259-262

\*3 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。

## ● 试剂盒之外必备主要仪器和试剂

- ◆ 异丙醇
- ◆ 70%乙醇
- ◆ 离心管
- ◆ 离心机
- ◆ 恒温水浴（37°C温浴用）
- ◆ 加热块（70°C加热用）

## ● 保存

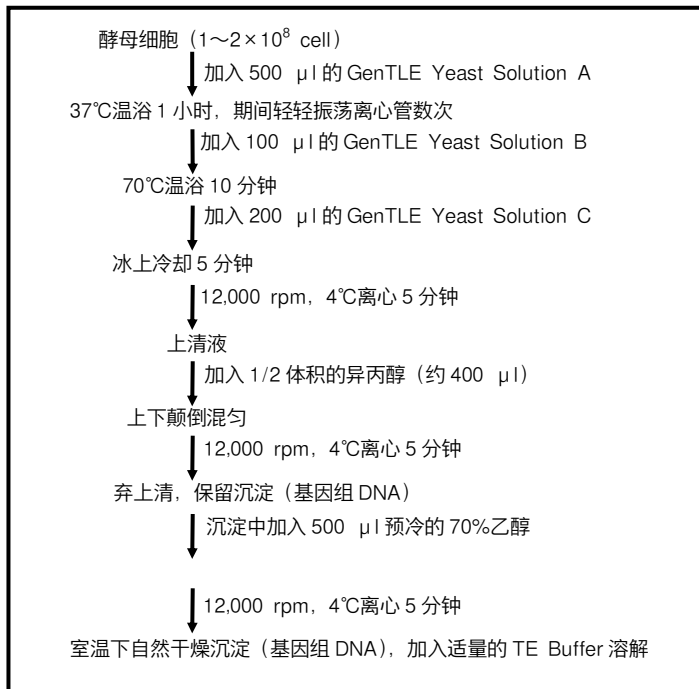
4°C。

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。

## ● 操作方法

1. 取含有  $1\sim 2\times 10^8$  个酵母菌的过夜培养液至 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 加热 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 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）。室温下自然干燥 DNA 沉淀至无乙醇气味。
11. 加入适量的 TE Buffer 或其他溶解 Buffer 溶解基因组 DNA。

## ● 操作流程图



## ● 实验例

从 *Saccharomyces cerevisiae* (Y187 strain, AH109 strain) 中提取基因组 DNA。

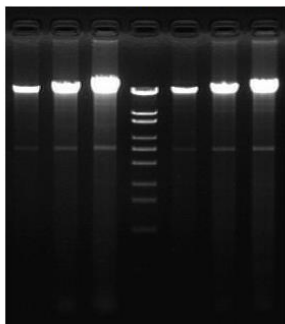
### 【方法】

从 *S. cerevisiae* (Y187 strain, AH109 strain) 培养液离心后分别取 1、2、3 ml 上清液 (YPD medium,  $OD_{600}\approx 3$ )，按试剂盒操作方法提取基因组 DNA。

### 【结果】

基因组 DNA 的  $OD_{260}/OD_{280}$  之比超过 1.6，对于酵母菌来说是纯度较好的比值。

1 2 3 M 4 5 6



上样量：提取 DNA 的 1/20 体积量

M :  $\lambda$ -EcoT14 I digest 50 ng

lanes 1, 2, 3 : Y187 培养液 1, 2, 3 ml

lanes 4, 5, 6 : AH109 培养液 1, 2, 3 ml

图：从 *S. cerevisiae* (Y187, AH109) 提取的基因组 DNA 电泳结果

## ● Troubleshooting

### 1、DNA 收量低或无收量

#### ◆ 使用的酵母量过多

当酵母细胞超过  $2 \times 10^8$ ，GenTLE Yeast Solution A 裂解不充分，游离的 DNA 量减少。如果制备 DNA 所使用的酵母细胞一次量超过  $2 \times 10^8$ ，可根据操作方法中按比例放大试剂添加量。

#### ◆ 使用的酵母量过少

当用于 DNA 制备的酵母少于  $1 \times 10^8$ ，DNA 回收量将减少。为得到稳定的 DNA 回收量，请使用推荐的酵母细胞量。

#### ◆ 酵母菌样品不适合使用本试剂盒制备 DNA

本试剂盒是通过 GenTLE Yeast Solution A 中含有的酶裂解酵母细胞壁来提取基因组 DNA。因此，如果酵母菌不适合使用此酶裂解细胞壁，DNA 收量会明显下降。Page1 提供了使用本试剂盒可提取 DNA 的酵母菌种一览表，请确认后使用。

#### ◆ DNA 溶解不充分

如果异丙醇沉淀后自然干燥的 DNA 难以溶解，加入 TE Buffer，室温下轻轻振荡过夜，或  $65^\circ\text{C}$  下加热 1 小时。

### 2、制备的 DNA 中混入了 RNA

一般情况下，RNA 可以通过此试剂盒操作去除。然而，由于酵母类型或培养条件的不同，RNA 不能被完全去除，此情况下，可根据需要加入 RNase。

Dr. GenTLE is a trademark of TAKARA BIO INC.

#### 注意

本产品仅供科学研究使用，不能用于人、动物的医疗或诊断程序，不能使用本产品作为食品、化妆品或家庭用品等。

未经 TAKARA BIO INC. 书面许可授权或批准，不得制造、许诺销售、销售、进口 Takara 产品，或者使用 Takara 产品所有的相关专利及相关商标。

如果您需要其他用途的许可授权，请联络我们，或访问我们网站 [www.takara-bio.com](http://www.takara-bio.com)。

您使用本产品必须遵守产品网页上适用的全部许可要求。阅读、了解并遵守此类声明的所有限制性条款是您的责任。

所有商标均属于各自商标所有者的财产。某些商标并未在全部行政区注册。

本文件由宝日医生物技术（北京）有限公司翻译制作，最新版本文件请参考 TAKARA BIO INC. 网站。为正确使用 Takara 产品，您应当掌握本产品的相关知识和使用说明。

**技术咨询热线：**

0411-87641685, 87641686  
4006518761, 4006518769

**TAKARA BIO INC.**

URL: <http://www.takara.com.cn>

v201702Da