

酵母からのゲノム抽出 edited by Aoki

[用意するもの]

Detergent lysis buffer ; 2% Triton X100, 1% SDS, 100mM NaCl, 10mM Tris-Cl,
1 mM EDTA pH8.0

TE buffer : 10 mM Tris-HCl 1mM EDTA (pH. 7.5)

[操作]

- ゲノムを抽出したい株を試験管 (3ml) で over night で培養。
- エッペンに集菌。
- 菌体と等量のガラスビーズと 50 μ l の lysis buffer と lysis buffer と等量の Phe/Chl を加える。
- Fast prep を用い破碎 (20sec 程度)。なければ vortex3~4min。
- 400 μ l の TE を加える。
- 200 μ l の Phe/Chl を加える。
- 遠心 (常温、14500rpm、10min)。
- 上清として等量のクロロホルムを加える。
- 遠心 (常温、14500rpm、10min)。
- 上清として塩 (CH_3COONa) と等量の 2-プロパノールを加える。
- 遠心 (4 $^\circ\text{C}$ 、14500rpm、10min)。
- 上清捨てて 75%エタノールを 1ml 加える。
- 遠心 (4 $^\circ\text{C}$ 、14500rpm、10min)。
- 上清捨てて風乾。
- 50 μ l ぐらいの TE にとかす (RNase)。