

## 真菌基因组 DNA 快速提取试剂盒

货号: NG1002S 100次  
NG1002M 200次

试剂盒组成	保存	100 次	200 次
平衡液	室温	50ml	100ml
RNase A(10mg/ml)	-20°C	400 µl	800ul
缓冲液 P1	-20°C	60 ml	120 ml
缓冲液 P2	-20°C	14 ml	28 ml
缓冲液 P3	-20°C	100ml	200ml
漂洗液 WB	室温	25ml	50ml
洗脱缓冲液 EB	室温	20ml	40 ml
过滤柱 AF/收集管 (2ml)	室温	100 套	200 套
吸附柱 AC	室温	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	100 个	200 个

## 储存事项:

1. 裂解液 P1、P3 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 65°C 水浴几分钟帮助重新溶解
2. 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。

## 产品介绍:

该试剂盒采用 DNA 吸附柱和新型独特的溶液系统，适合于从真菌组织细胞中快速简单地提取基因组 DNA。可在 30 分钟内完成一个或多个 100mg 新鲜或 20mg 干燥的真菌样品 DNA 的纯化工作。提取过程不需要用到有毒的酚氯仿等有机物抽提，也不需要用到耗时的异丙醇或乙醇沉淀，并能快速高效地去除多糖类、酚类和酶抑制物等杂质，纯化的 DNA 可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。

新鲜或干燥的真菌组织（细胞）磨碎后经裂解液裂解；蛋白质、多糖、细胞残片被沉淀去除；然后基因组 DNA 在高离子盐状态下选择性吸附于离心柱内硅基质膜，再通过一系列快速的漂洗 - 离心的步骤，进一步将多糖，多酚和细胞代谢物，蛋白等杂质去除，最后低盐的洗脱缓冲液将纯净基因组 DNA 从硅基质膜上洗脱。

## 产品特点:

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜，柱与柱之间吸附量差异极小，可重复性好。
2. 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
3. 快速，简捷，单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
4. 数种去多糖、多酚成份和多次柱漂洗确保高纯度，OD<sub>260</sub>/OD<sub>280</sub> 典型的比值达 1.7 ~ 1.9，可直接用于 PCR，Southern-blot 和各种酶切反应。

## 自备试剂: 无水乙醇、β-巯基乙醇（可选）

## 注意事项:

1. 所有的离心步骤均在室温完成，离心机转速需达到 13,000 rpm。
2. 实验前将水浴预热到 65°C 备用。
3. 缓冲液 P3 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
4. 不同来源的真菌组织细胞材料中提取 DNA 的量会有差异，一般 100mg 新鲜组织典型产量可达 3-25µg。
5. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20°C。DNA 如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0），但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

## 操作步骤：(实验前请先阅读注意事项)

**提示：**第一次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入，

### (可选步骤)

柱平衡步骤：向吸附柱 AC 中（吸附柱放入收集管中）加入 500 $\mu$ l 的平衡液，12,000 rpm 离心 1 分钟，倒掉收集管中的滤液，将吸附柱重新放回收集管中。（请使用当天处理过的柱子。柱平衡后有助于核酸得量的提升。）

**注：使用前将缓冲液 P1 放置在 65°C 预热，**

取适量真菌组织在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。

1. 转移细粉（新鲜真菌组织 100 mg 或干重组织 20 mg）到一个 1.5ml 离心管，不要解冻，加入 550 $\mu$ l 预热的缓冲液 P1 和 4 $\mu$ l RNase A(10 mg/ml)，剧烈旋涡振荡，充分混匀帮助裂解。

**可选：多糖含量特别高的时候可以在 P1 加入 2%PVP40；多酚含量特别高的时候可以在 P1 中加入 0.2%  $\beta$ -巯基乙醇。也可两者同时加入。**

2. 65°C 水浴 10 分钟，在水浴过程中颠倒离心管 2-3 次，混合样品。
3. 加入 130 $\mu$ l 缓冲液 P2，充分混匀，冰上放置 5 分钟，12,000 rpm 离心 5 分钟，小心吸取上清到过滤柱 AF 注意不要吸到界面物质，12000rpm 离心 1 分钟，收集下滤液。
4. 转移下滤液到一个新的 2ml 离心管中，加入 1.5 倍体积的 P3，立即吹打混匀。

**加入 P3 可能会出现絮状沉淀，但不影响 DNA 提取。注意将 P3 直接加入到上清并立即吹打混匀。**

5. 将上一步所得混合物（包括可能出现的沉淀）加入一个吸附柱 AC 中，（吸附柱放入收集管中）12,000 rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液（先加 650 $\mu$ l 离心，弃废液，再加入剩余的溶液，再次离心）。
6. 加入 500 $\mu$ l 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。
7. 加入 700 $\mu$ l 漂洗液 WB，12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
8. 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。
9. 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 100 $\mu$ l 洗脱缓冲液 EB，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吸附柱中，室温放置 2 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟。

**洗脱体积越大，洗脱效率越高，如果预计和需要产量高，可增大洗脱体积，如果需要 DNA 浓度较高，可以适当减少洗脱体积，但是最小体积不应少于 50 $\mu$ l，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少 DNA 产量。**

10. DNA 可以存放在 2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在 -20°C。