

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
RNase A(10mg/ml)	-20°C	500 µl	1 ml
缓冲液 P1	室温	60 ml	120 ml
缓冲液 P2	室温	20 ml	40 ml
缓冲液 P3	室温	25ml	50ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
漂洗液 WB	室温	25ml	50ml
		第一次使用前按说明加指定量乙醇	
洗脱缓冲液 EB	室温	20ml	40 ml
吸附柱 AC	室温	100 个	200 个
收集管 (2ml)	室温	100 个	200 个

储存事项:

- 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（P3 加入乙醇前可加热，加入乙醇后不可加热），恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- 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、酚类和酶抑制剂等杂质，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：

- 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。
- 不需要使用有毒的苯酚等试剂，也不需要乙醇沉淀等步骤。
- 快速，简捷，单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
- 数种去多糖、多酚成份和多次柱漂洗确保高纯度，OD₂₆₀/OD₂₈₀ 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。

注意事项:

- 所有的离心步骤均在室温完成，离心机转速需达到 13,000 rpm。
- 实验前将水浴预热到 65°C 备用。
- 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。
- 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。
- 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 和 P3 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！

1. 取适量真菌组织在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
2. 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 600 μ l 缓冲液 P1 和 5 μ l RNase A(10 mg/ml), 旋涡振荡,充分混匀帮助裂解。

如果组织裂解困难,可根据需要加一个轻柔匀浆 10 秒的步骤帮助裂解。大多数情况下不需要离心去除未完全裂解的组织,因为后面有一个离心去除的步骤。

可选：多糖含量特别高的时候可以在 P1 加入 2%PVP40, 000; 多酚含量特别高的时候可以在 P1 中加入 0.2% β -巯基乙醇。也可两者同时加入。

3. 65 $^{\circ}$ C水浴 10 分钟,在水浴过程中颠倒离心管 2-3 次,混合样品。
4. 加入 200 μ l 缓冲液 P2,充分混匀,冰上放置 5 分钟, 14,000 rpm 离心 5-10 分钟,小心吸取上清到一个新的 1.5ml 离心管,注意不要吸到界面物质。
5. 计算上清量,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。

6. 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) 13,000 rpm 离心 30-60 秒,倒掉收集管中的废液(先加 650 μ l 离心,弃废液,再加入剩余的溶液,再次离心)。
7. 加入 600 μ 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。
8. 加入 600 μ l 漂洗液 WB, 12,000 rpm 离心 30 秒,弃掉废液。
9. 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。
10. 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 μ 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 μ l,体积过小降低 DNA 洗脱效率,减少 DNA 产量。
11. DNA 可以存放在 2-8 $^{\circ}$ C,如果要长时间存放,可以放置在 - 20 $^{\circ}$ C。