

真菌基因组DNA快速提取试剂盒

KD305 50次

试剂盒组成、储存、稳定性:

试剂盒组成	保存	50 次
RNase A(10mg/ml)	4°C	250 μ l
缓冲液 AP1	室温	20 ml
缓冲液 AP2	室温	7 ml
缓冲液 AP3/E	室温	15 ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
漂洗液 WB	室温	13ml 第一次使用前按说明加指定量乙醇
洗脱缓冲液 EB	室温	15 ml
吸附柱 AC 和收集管 (2ml)	室温	50 个

本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。

储存事项:

1. 结合液 RNase A 保存在即用型甘油缓冲液中, 常温运输, 收到后, 不超过 25°C 室温至少保存 6 个月, 4°C 保存 12 个月, 长期保存放 -20°C。
2. 缓冲液 AP1、AP3/E 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 (AP3 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。
3. 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:

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，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

1. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到13,000 rpm的传统台式离心机。
2. 开始实验前将需要的水浴先预热到65°C备用。
3. 缓冲液AP3/E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。
6. 真菌种类复杂，没有一种试剂盒可以提取所有种类的真菌DNA。如果有的真菌多糖多酚含量过于丰富、次级代谢产物太复杂导致本试剂盒效果不佳，可以选择本公司CTAB法植物DNA提取试剂盒（离心柱法）提取真菌，一般该试剂盒对于多糖多酚次级代谢产物复杂的真菌DNA提取效果良好。

操作步骤: (实验前请先阅读注意事项)

- ⇒ 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。
- ⇒ 第一次使用前请先在缓冲液 AP3/E 中加入指定量无水乙醇!
1. 取适量植物组织 (新鲜组织 100 mg 或干重组织 20 mg, 可适当多取一些样品弥补粘在研钵上的损失) 在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。研磨前, 可准备一个 1.5ml 离心管, 加入 400 μ l 缓冲液 AP1 和 4 μ l RNase A(10 mg/ml) 室温备用。
 2. 转移细粉 (新鲜真菌 100 mg 或干重组织 20 mg) 到前面准备的 1.5ml 离心管 (已加入 400 μ l 缓冲液 AP1 和 4 μ l RNase A(10 mg/ml)) 漩涡振荡, 充分混匀帮助裂解。
 3. 65 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟, 在水浴过程中可颠倒离心管 2-3 次, 混合样品。注意: 此步骤也可室温放置 10 分钟, 但是 65 $^{\circ}$ C 水浴 10 分钟产量更高。
 4. 加入 130 μ l 缓冲液 AP2, 漩涡振荡混匀 1 分钟, 冰上放置 5 分钟, 13,000 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。此步骤可以沉淀去除蛋白、多糖、等各种杂质。
 5. 计算上清量, 加入 1.5 倍体积的 AP3/E (请先检查是否已加入无水乙醇!), 立即振荡混匀。加入 AP3/E 可能会出现絮状沉淀, 但不影响 DNA 提取。注意将 AP3/E 直接加入到上清并立即吹打或者振荡混匀。
 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!), 13,000 rpm 离心 30 秒, 弃掉废液。
 8. 重复一遍操作步骤 7。注意: 如果吸附柱膜还呈现较多绿色色素, 可添加此步漂洗, 向吸附柱 AC 中加入 500 μ l 无水乙醇, 13,000 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, 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 50 μ l-100 μ l 洗脱缓冲液 EB, 室温放置 3-5 分钟, 13,000 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, 13,000 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 可以短时存放在 2-8 $^{\circ}$ C, 如果要长时间存放, 可以放置在 - 20 $^{\circ}$ C。