

真菌基因组 DNA 提取试剂盒

货号：D2300

规格：50T/100T

保存：室温保存，有效期 1 年。（附件 1: RNase A(FJD2300-1)、附件 2: 蛋白酶 K:(FJD2300-2)，-20℃保存）。

组份	D2300-50T	D2300-100T	保存
RNase A	100μL	100μL×2	-20℃
蛋白酶 K	1mL	1mL×2	-20℃
玻璃珠	6g	11g	RT
溶液 A	10mL	20mL	RT
溶液 B	10mL	20mL	RT
漂洗液	15mL	15mL×2	RT
洗脱液	10mL	20mL	RT
吸附柱	50 个	100 个	RT
收集管	50 个	100 个	RT
说明书	1 份	1 份	-

产品简介：

真菌是具有真核和细胞壁的异养生物，种属很多，已报道的属达 1 万以上，种超过 10 万个。真菌通常又分为三类，即酵母菌、霉菌和蕈菌（大型真菌）。本试剂盒适用于酵母菌和霉菌，可以用玻璃珠处理，经过前期处理的菌液，用硅质膜吸附，即可得到高纯度的基因组。提取纯化后的 DNA，可以直接用于 PCR/Real time-PCR, sequencing, Southern blot, mutant analysis, SNP 等下游应用。

而对于大型真菌，蕈菌、蘑菇，本试剂盒提取效果会有所降低，不建议使用（附推荐处理方法）。

操作步骤（仅供参考）：

使用前请先在漂洗液中加入无水乙醇，加入体积请参照瓶体上的标签（每瓶需要单独添加 45mL 无水乙醇）。所有离心步骤均为使用台式离心机在室温下离心。

1、样品处理：

1) 对于酵母菌，取 1-2mL 培养好的菌液，离心收集，弃上清。加入 200μL 溶液 A，加入 2μL RNase A，再加入 100mg 玻璃珠，在高速振荡器上振荡，约 5-10min。

2) 霉菌(孢子也可相同处理)：取 50-100mg 菌丝，加 200μL 溶液 A，用玻璃研磨器适当研磨分散菌丝，加入 2μL RNase A，再加入 100mg 玻璃珠，在高速振荡器上振荡，约 30min。

3) 大型真菌（建议）：称取 100-200mg 样品，倒入适量的液氮，立即研磨重复 3 次，使样品研成粉末，加 400μL 的 CTAB 裂解液（索莱宝货号：LS00066），加入 2μL RNase A，再加入 100mg 玻璃珠，在高速振荡器上振荡，约 5min，后续再采用本试剂盒继续提取。





- 2、加入 20 μ L 的蛋白酶 K, 充分混匀, 55 $^{\circ}$ C 水浴消化 30min, 消化期间可颠倒离心管混匀数次。12000rpm 离心 2min。将上清转移到一个新的离心管中。如有沉淀, 可再次离心。
- 3、在上清中加入 200 μ L 溶液 B, 充分混匀。如出现白色沉淀, 可放 55 $^{\circ}$ C 水浴 5min, 沉淀即会消失, 不影响后续实验。如溶液未变清亮, 说明样品消化不彻底, 可能导致提取的 DNA 量少及不纯, 还有可能导致上柱后堵柱子, 请增加消化时间。
- 4、再加入 200 μ L 无水乙醇, 充分混匀, 此时可能会出现絮状沉淀, 不影响 DNA 的提取, 将溶液和絮状沉淀都加入吸附柱中, 放置 2min。
- 5、12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。
- 6、向吸附柱中加入 600 μ L 漂洗液(使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。
- 7、向吸附柱中加入 600 μ L 漂洗液, 12000rpm 离心 1min, 弃废液, 将吸附柱放入收集管中。
- 8、12000rpm 离心 2min, 将吸附柱置于室温或 50 $^{\circ}$ C 温箱放置数分钟, 目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除, 否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR 等。
- 9、将吸附柱放入一个干净的离心管中, 向吸附膜中央悬空滴加 50-200 μ L 经 65 $^{\circ}$ C 水浴预热的洗脱液, 室温放置 5min, 12000rpm 离心 1min。
- 10、离心所得洗脱液再加入吸附柱中, 室温放置 2min, 12000rpm 离心 2min, 即可得到高质量的基因组 DNA。

注意事项：

1. 由于真菌种类万千, 对于一些特别难处理的真菌, 可用液氮研磨, 再用玻璃珠振荡, 蛋白酶 K 处理, 一般都可以得到一定量的基因组 DNA, 如电泳检测很弱, 一般 PCR 都会有较好结果。
2. 若溶液 A 或溶液 B 中有沉淀, 可在 55 $^{\circ}$ C 水浴中重新溶解。
3. 如果 DNA 提取量很少, 可加长玻璃珠处理时间, 如果提取 DNA 成弥散短条带, 可减少玻璃珠处理时间。
4. 洗脱缓冲液的体积最好不少于 50 μ L, 体积过小会影响回收效率; 洗脱液的 pH 值对洗脱效率也有影响, 若需要用水做洗脱液应保证其 pH 值在 8.0 左右(可用 NaOH 将水的 pH 值调至此范围), pH 值低于 7.0 会降低洗脱效率; DNA 产物应保存在 -20 $^{\circ}$ C, 以防 DNA 降解。
5. DNA 浓度及纯度检测: 得到的基因组 DNA 片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的 DNA 片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA 应在 OD₂₆₀ 处有显著吸收峰, OD₂₆₀ 值为 1 相当于大约 50 μ g/mL 双链 DNA、40 μ g/mL 单链 DNA。OD₂₆₀/OD₂₈₀ 比值应为 1.7-1.9, 如果洗脱时不使用洗脱缓冲液, 而使用去离子水, 比值会偏低, 因为 pH 值和离子存在会影响光吸收值, 但并不表示纯度低。

相关产品：

D1010 6 $\times$ DNA Loading Buffer

T1060 50 $\times$ TAE 缓冲液

T1050 5 $\times$ TBE 缓冲液

M1060 D2000 DNA Ladder

M1400 1kb DNA Ladder

G8142 GoldView II 型核酸染色剂(5000 $\times$)

