

真菌基因组DNA快速提取试剂盒（复杂型、小量）

产品货号：26794

产品规格：50次/200次

产品简介：

本试剂盒适用于快速提取真菌基因组DNA，可在1h内完成单个或多个样本的提取工作。该试剂盒基于改良型真菌抽提液迅速裂解细胞和灭活细胞内核酸酶，氯仿抽提后通过离心清除多糖、多酚和蛋白质（根据需要，上清中还可加入异丙醇离心沉淀基因组DNA，进一步去除其它各种杂质），然后基因组DNA在高离序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、离心步骤，进一步将蛋白、多糖、多酚以及细胞代谢物等杂质去除，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。不同来源的真菌组织材料中提取DNA的产量会有差异。

产品内容：

产品名称	50次	200次	保存条件
裂解液PL	30ml	120ml	室温
结合液PQ	45ml	90ml×2	室温
抑制物去除剂IR	25ml	100ml	室温
漂洗液WB	15ml (第一次使用前加无水乙醇60ml)	25ml×2 (第一次使用前每瓶加无水乙醇100ml)	室温
洗脱缓冲液EB	15ml	20ml	室温
吸附柱AC	50个	200个	室温
收集管(2mL)	50个	200个	室温

自备材料：

氯仿或者氯仿/异戊醇（体积比24:1混合）、无水乙醇、β-巯基乙醇、RNase A。

注意事项：

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项。

- 所有离心操作步骤，均在室温（15-25℃）下进行。
- 裂解液PL、结合液PQ或者抑制物去除液IR低温时可能出现析出和沉淀，可以在55℃水浴几分钟帮助重新溶解，待恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- 结合液PQ和抑制物去除液IR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。
- 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瓶盖。
- 首次使用前请先在漂洗液WB中加入指定量的无水乙醇，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！
- 取所需适量裂解液PL放置在65℃预热，使用前加入β-巯基乙醇到终浓度2%，本试剂建议现用现配。

使用方案：

- 取适量新鲜真菌组织约100mg或干重组织30mg，在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
- 转移细粉到1.5mL离心管，不要解冻，加600μL 65℃预热的裂解液PL（确认已加入β-巯基乙醇至2%），剧烈涡旋振荡混匀，用大口径枪头轻柔吹打帮助裂解。
 - ▲裂解液PL需提前于65℃预热5-10min，以便于组织裂解。
 - ▲如果组织裂解困难，可根据需要加一个轻柔匀浆10s的步骤帮助裂解。
- 65℃水浴20-30min，在水浴过程中颠倒混匀样品2-3次。
 - ▲可选步骤：如果预计样品RNA丰富易残留，可在水浴前加入5-6μL RNase A（20mg/mL）。如果组织干燥或者产量低，可以适当延长水浴时间。



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q: 807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com

▲注：如果提取的DNA残留RNA较多导致电泳时候条带拖尾，条带扭曲，背景很高等不正常电泳情况，可以加1% RNase A（10mg/mL）37°C或者室温放置半小时即可消化RNA，消化完后不需要特殊处理便可用于PCR或者酶切。

4. 加入700μL氯仿或者氯仿/异戊醇（体积比24:1混合），颠倒充分混匀几分钟（或者涡旋混匀），12,000rpm（13,400×g）离心5min。
▲可选步骤：若提取的真菌组织富含多糖多酚，可以在第4步前用等体积酚/氯仿（1：1）抽提一遍。
5. 小心取上清到一个新的1.5mL离心管，注意不要吸到界面物质。
▲可选步骤：如上清比较浑浊，则可重复步骤4一遍，直到得到透亮上清。
6. 较精确估算上清量，加入1.5倍体积结合液PQ后立刻涡旋，充分混匀。此时可能出现沉淀，但不影响实验结果。
7. 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），12,000rpm（13,400×g）离心30s，弃废液（溶液过多可多次离心）。
8. 加入500μL抑制物去除液IR，12,000rpm（13,400×g）离心30s，弃废液。
9. 加入600μL漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000rpm（13,400×g）离心30s，弃废液，重复漂洗一遍。
10. 将吸附柱AC放回空收集管中，12,000rpm（13,400×g）离心2min，尽量除去漂洗液。
11. 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100μL洗脱缓冲液EB（事先在65-70°C水浴中预热），室温放置3-5min，12,000rpm（13,400×g）离心1min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中，室温放置2 min，12,000rpm（13,400×g）离心1min。
▲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50μL，体积过小降低DNA洗脱效率，减少DNA产量。
12. DNA可以存放在2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在-20°C。

流程简图：



扫一扫 加微信

上海尚宝生物科技有限公司

Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号

电话：400-611-0007 13671551480

Q Q：807961520

邮箱：saintbio@126.com

http://www.saint-bio.com