

## 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。
  - ▲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，



扫一扫 加微信

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址：郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话：400-611-0007 13671551480 13643719799

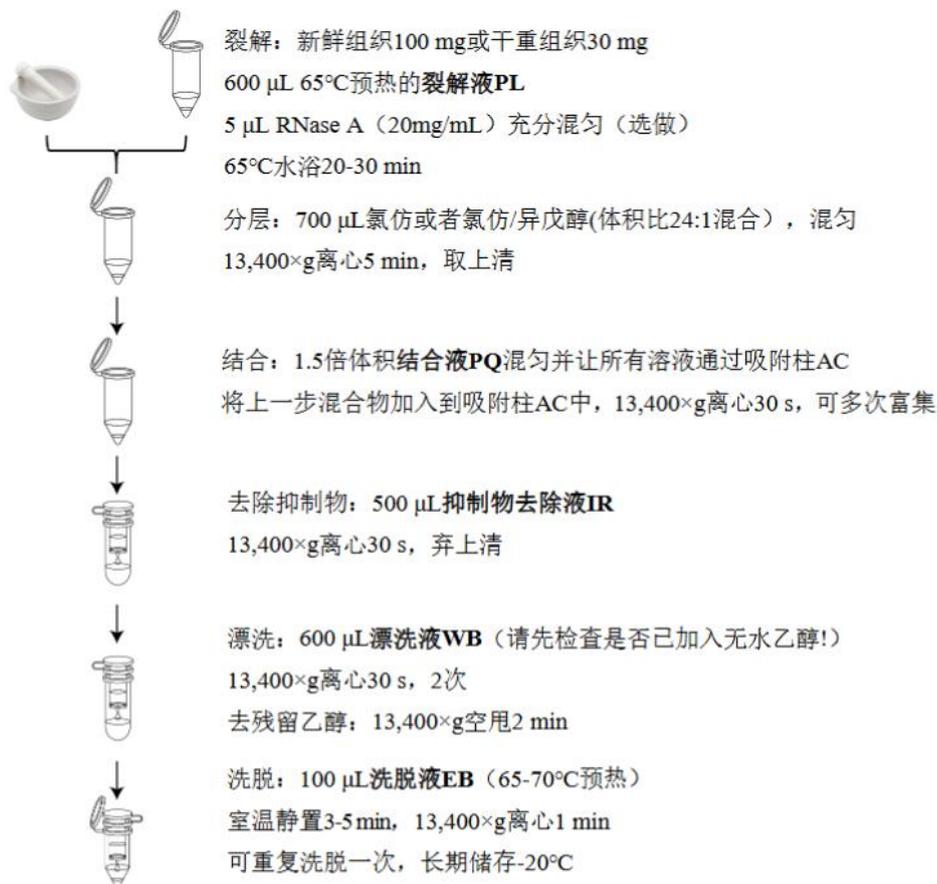
Q Q：807961520 731791866

邮箱：zzlybio@126.com

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 700 $\mu$ L 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 $\times$ 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 $\times$ g) 离心 30s, 弃废液 (溶液过多可多次离心)。
8. 加入 500 $\mu$ L 抑制物去除液 IR, 12,000rpm (13,400 $\times$ g) 离心 30s, 弃废液。
9. 加入 600 $\mu$ L 漂洗液 WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000rpm (13,400 $\times$ 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 $\times$ 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 100 $\mu$ L 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 $\times$ g) 离心 1min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置 2min, 12,000rpm (13,400 $\times$ 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 50 $\mu$ L, 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

郑州乐业生物科技有限公司

Zhengzhou Leye-Bio Biotechnology Co.,Ltd

地址:郑州市高新区红松路36号龙鼎企业中心一期1号楼5楼25号

免费电话: 400-611-0007 13671551480 13643719799

Q Q: 807961520 731791866

邮箱: zzlybio@126.com