



真菌基因组 DNA 提取试剂盒

(离心柱型)

产品编号	规格
K322-S	100 次
K322-L	200 次

产品简介

本试剂盒采用可以特异性结合 DNA 的离心柱和独特的缓冲液系统，提取常见大型真菌、丝状真菌、部分植物中的基因组 DNA。离心柱中采用的硅基质材料为本公司特有新型材料，能够高效、专一吸附 DNA，可最大限度去除杂质蛋白及细胞中其他有机化合物。提取的真菌基因组 DNA 片段大，纯度高，质量稳定可靠。

一、试剂盒组成、储存条件

试剂盒组成	保存	K322-S	K322-L
裂解液 (STE)	室温	80mL/瓶×1 瓶	160 mL /瓶×1
洗液 1(wash1)	室温	36 mL/瓶×1 瓶	72 mL/瓶×1 瓶
洗液 2(wash2)	室温	18 mL/瓶×1 瓶	36mL/瓶×1 瓶
Elution Buffer	室温	5mL /瓶×1 瓶	10 mL /瓶×1 瓶
吸附柱 C1	室温	100 个	200 个
2mL 收集管	室温	100 个	200 个
蛋白酶 K 溶液 (20mg/ml)	-20℃	1ml/支*2	1ml/支*4
说明书	室温	1 份	1 份

本试剂盒室温下保存 12 个月不影响使用效果。低温条件下保存时，若裂解液 (STE) 产生沉淀，请先将裂解液 (STE) 室温 (20-30℃) 条件下放置一段时间，必要时可放 37℃ 水浴中温浴 10 min，以溶解沉淀。

二、实验前准备

- 65℃水浴锅、离心机；预热裂解液 STE。
- 无水乙醇、异丙醇、Rnase A (另购：货号 F801-s)
- 液氮 及样品碾磨设备 (组织碾磨仪、研钵等设备)
- 使用前，请按下表准确加入 98-100%的乙醇。

	100T	100T
洗液 1 (wash1)	36ml	72ml
乙醇	24ml	48ml

	100T	200T
洗液 2 (wash2)	18ml	36ml
乙醇	42ml	84ml

三、操作步骤 A (离心法)

使用前请先在洗液1 (wash1) 和洗液2 (wash2) 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶上的标签。

1. 用液氮或其它工具将菌丝体、子实体 (大型真菌) 研磨成粉末。转移 50mg 粉末 (样品不易多) 至 1.5mL 离心管。
2. 立即加入 65°C 预热的裂解液 (STE) 750 μ l 和 20 μ l 蛋白酶 K 溶液并剧烈涡旋打散样品 (实验前在预热的 STE 中加入巯基乙醇, 使其终浓度为 1%); 若后续实验需要去除 RNA 的, 请加入 20 μ l Rnase A (10mg/ml)。

(若样品量不足 50mg, 可以直接加入裂解液 (STE) 600 μ l 并剧烈涡旋混匀, 本试剂盒不含 Rnase A, 可购买货号: F801-S)

3. 65°C 水浴 60min 后, 加入 750 μ l 酚:氯仿 (V:V=25: 24, 推荐 383mL 酚: 367mL 氯仿混匀待用), 充分混匀, 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 10 min; (若: 酚:氯仿 (V:V=25: 24) 混合后分层, 请取下层有机相)
4. 收集上清 (通常 350~400 μ l) 转移至干净的离心管 (未提供)。加入等体积的异丙醇 (最好新开瓶的), 用移液器吹吸混合均匀。(此步骤若有白色沉淀, 请涡旋震荡或枪头吹散后过柱)
5. 将制备的混合物转移至吸附柱 C1 中, 将吸附柱 C1 12000 \times g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。弃掉流穿液, 并将吸附柱 C1 重新装入收集管中。
6. 向吸附柱 C1 中加入 600 μ l 洗液 1 (wash1) (确保其中已加入乙醇)。12000 \times g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。弃掉流穿液; 将吸附柱 C1 置于收集管中。
7. 向吸附柱 C1 中加入 600 μ l 无水乙醇。12000 \times g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。弃掉流穿液; 将吸附柱 C1 置于收集管中。
8. 向吸附柱 C1 中加入 600 μ l 洗液 2 (wash2) (确保其中已加入乙醇)。12000 \times g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。弃掉流穿液; 将吸附柱 C1 置于收集管中。
9. 之后将吸附柱 C1 以最大速度 \geq 20000 \times g (\geq 14000 rpm) 重新离心 1 分钟。弃掉含有流穿液的收集管, 将吸附柱 C1 转移到 1.5 mL RNase-free 的收集管中。
10. 向吸附柱 C1 的膜中心加入 50 μ l 不含核酸酶的水或 Elution buffer 以洗脱 DNA, 12000 \times g (~11000 rpm) 离心 1 分钟。(注: 若预期 DNA 产量超过 30 μ g, 请重复一次洗脱步骤。)
11. 弃掉吸附柱 C1。将提取的 DNA 立即用于下游实验或贮存于-20°C。

注意: 洗脱缓冲液体积不应少于50 μ l, 体积过小影响回收效率。洗脱液的pH值对于洗脱效率有很大影响。若用 ddH₂O 做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5范围内, pH值低于 7.0会降低洗脱效率; 且DNA产物应保存在-20°C, 以防DNA降解。为增加基因组DNA 的得率, 可将离心得到的溶液再加入离心柱中, 室温放置2 min, 12,000 rpm (~13,400 \times g)离心2 min。

五、操作步骤 B (负压法)

步骤 1-4 同离心法。

5. 将离心柱连到负压装置（如真空抽滤盒）上，将第4步获得的溶液转移到离心柱中，开启并调节负压至800mba，缓慢吸走液体。
6. 向离心柱依次加入600 μ l洗液1(Wash 1)、600 μ l 无水乙醇、600 μ l洗液2(Wash 2)，使用负压装置使得液体通过离心柱。
7. 干抽2min，使得离心柱上的乙醇挥发完全，然后关掉负压装置；
8. 将离心柱放置到新的1.5 mL收集管上，向离心柱中央加入50~100 μ l的Elution Buffer ，盖好盖子，室温放置3 min。
9. 12000 rpm离心2 min，将所得的核酸放置-20 $^{\circ}$ C保存或立即使用。