

真菌基因组 DNA 提取试剂盒说明书

货号: AC11020

规格: 50T/ 100T

保存: 常温保存, 复检期一年。(注: RNase A、蛋白酶 K 以附件形式发货, -20°C保存)

试剂盒内容:

组份	50T	100T	保存
RNase A	100 μ L	100 μ L \times 2	-20 $^{\circ}$ C
蛋白酶 K	1mL	1mL \times 2	-20 $^{\circ}$ C
玻璃珠	6g	11g	RT
溶液 A	10mL	20mL	RT
溶液 B	10mL	20mL	RT
漂洗液	15mL	15mL \times 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、样品的处理:

1) 对于酵母菌, 取 1-2mL 培养好的菌液, 离心收集, 弃上清。加入 200 μ L 溶液 A, 加入 2 μ L 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 200 μ L 溶液 A, 用玻璃研磨器适当研磨分散菌丝, 加入 2 μ L 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 400 μ L 的 CTAB 裂解液 (货号: AC12914), 加入 2 μ L 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 2 分钟。
- 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：

AC10989 6 \times DNA Loading Buffer

AC17137 50 \times TAE 缓冲液

AC17133 5 \times TBE 缓冲液

AC12968 D2000 DNA Ladder

AC12973 1kb DNA Ladder

AC11938 GoldView II 型核酸染色剂(5000 \times)