

Version: AA 4.0 (2024.02.22修订)

# SPARKclassic Fungus DNA Kit

## 真菌基因组DNA提取试剂盒

(溶液型)

目录号: AA0401

### 01/产品组分

序号	组分	50 次 AA0401-A	200 次 AA0401-B
1	缓冲液 AP1	20 mL	80 mL
2	缓冲液 AP2	7 mL	26 mL
3	DNA 溶解液	10 mL	20 mL
4	RNase A (10 mg/mL)	250 $\mu$ L	1 mL

### 02/保存条件

RNase A 于 -20°C 保存, 其它组分室温 (15-25°C) 保存。

### 03/产品概述

本试剂盒适用于从真菌干粉 ( $\leq 20$  mg) 或真菌材料 ( $\leq 100$  mg) 中提取基因组 DNA, 且操作简单方便, 可在 1 h 内完成单个或多个样本的提取工作。该试剂盒对样品的起始量没有限制, 实验者可根据实验需求灵活调整。试剂盒采用独特的缓冲液系统, 无需酚/氯仿抽提, 使用安全方便, 可最大限度去除杂质蛋白和其它有机化合物。提取的基因组 DNA 片段大, 纯度高, 质量稳定可靠, 可用于酶切、PCR、文库构建、Southern 杂交等分子生物学实验。不同来源的真菌组织材料中提取 DNA 的量会有差异。

### 04/自备材料

异丙醇、70%乙醇

## 05/注意事项

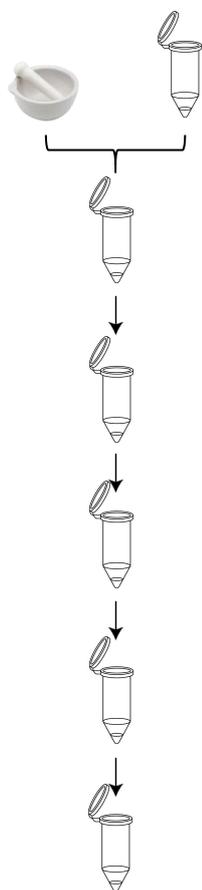
### 请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25°C）下进行。
- ◇ 缓冲液 AP1、AP2 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 37°C-65°C 水浴几分钟帮助重新溶解，不要剧烈摇晃，以免形成过量的泡沫，恢复澄清透明后冷却至室温即可使用。
- ◇ 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。
- ◇ 避免液氮冻伤以及温差导致的离心管爆炸。

## 06/使用方案

1. 取适量新鲜真菌组织约 100 mg 或干重组织约 20 mg，在液氮中充分研磨成细粉，转移细粉至 1.5 mL 离心管中。
  - ▲ 样品处理量不要超过试剂盒兼容容量，否则导致样品裂解不充分。
  - ▲ 液氮研磨后的样本如不立即进行下一步操作，请置于 -70°C 保存，避免反复冻融。
2. 向样品粉末中立即加入 400  $\mu$ L 缓冲液 AP1 和 4  $\mu$ L RNase A（10 mg/mL）（也可提前准备好加入 400  $\mu$ L 缓冲液 AP1 和 4  $\mu$ L RNase A 的 1.5 mL 离心管，将研磨好的粉末直接加入离心管即可），涡旋振荡，充分混匀帮助裂解。
  - ▲ 如果组织裂解困难，可根据需要加一个轻柔匀浆 10 s 的步骤帮助裂解。
3. 65°C 水浴 10 min，在水浴过程中颠倒混匀样品 2-3 次。
4. 加入 130  $\mu$ L 缓冲液 AP2，充分混匀，冰上放置 5 min，12,500 rpm（14,500 $\times$ g）离心 5 min，小心取上清到一个新的 1.5 mL 离心管，注意不要吸到界面物质。
  - ▲ 可选步骤：将上清液再次 12,500 rpm（14,500 $\times$ g）离心 5 min，小心缓慢吸取上清到一个新的 1.5 mL 离心管中，不要吸到沉淀。
5. 加入 0.7 倍体积的室温异丙醇，颠倒 30 次混匀或者直到出现棉絮状（丝状）白色 DNA 沉淀。
6. 12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 2 min，在管底可以见到白色的 DNA 沉淀块，弃上清。
7. 加入 1 mL 70% 乙醇，颠倒几次漂洗 DNA 沉淀，12,000 rpm（13,400 $\times$ g）离心 1 min，弃上清（注意不要把 DNA 沉淀倒掉），倒置在吸水纸上轻敲几下以控干残留乙醇，还可以用枪头小心吸掉管底沉淀周围和管壁的残留乙醇，空气晾干沉淀几分钟。
  - ▲ 注意不要干燥过头，否则 DNA 极其难溶；也不能残留太多乙醇，否则乙醇可能抑制下游反应（如酶切）。
8. 加入适量 DNA 溶解液重新水化溶解 DNA 沉淀，轻弹管壁混匀，可以放置在 65°C 温育 30-60 min（不要超过 1 h），期间不时的轻弹管壁帮助重新水化 DNA。也可以在室温或者 4°C 放置过夜来重新水化 DNA。
9. DNA 可以存放在 2-8°C，如果要长时间存放，可以放置在 -20°C。

## 07/流程简图



液氮研磨：新鲜组织100 mg或干重组织20 mg

裂解：400  $\mu$ L缓冲液AP1，4  $\mu$ L RNase A（10 mg/mL）  
65°C水浴10 min

去蛋白等杂质：130  $\mu$ L缓冲液AP2，冰置5 min  
14,500 $\times$ g离心5 min，取上清

DNA沉淀：0.7倍体积的室温异丙醇，充分混匀  
13,400 $\times$ g离心2 min，弃上清

去盐离子：1 mL 70%乙醇  
13,400 $\times$ g，离心1 min，弃上清，晾干

DNA溶解：适量DNA溶解液  
65°C 30-60 min或4°C过夜，长期储存-20°C

## 08/相关产品

- AA1904-A RNase A (10 mg/mL)
- AA1904-B RNase A (100 mg/mL)
- AA0402 SPARKeasy 真菌基因组DNA快速提取试剂盒 (复杂型、小量)
- AA0403 SPARKeasy 真菌基因组DNA快速提取试剂盒 (小量)
- EA0008 蛋白酶抑制剂混合物 (真菌或酵母抽提用, 100×)
- AC0305 SPARKeasy 新型植物RNA快速提取试剂盒
- AF0802 2× SparkHiFi Max Master Mix (with dye)
- AF0803 2× SparkHiFi Max Master Mix (without dye)

本产品仅用于科学研究!

Tel: 0531-82387577

Web: <http://www.sparkjade.com>

Support: [support@sparkjade.com](mailto:support@sparkjade.com)

