

Version: AA4.1 (2024.08.19修订)

SPARKeasy Fungus DNA Kit

真菌基因组DNA快速提取试剂盒

(离心柱型)

目录号: AA0402

01/产品组分

序号	组分	50 次 AA0402-A	200 次 AA0402-B
1	裂解液 PL	30 mL	120 mL
2	结合液 PQ	45 mL	90 mL×2
3	抑制物去除液 IR	25 mL	100 mL
4	漂洗液 WB	15 mL 第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇 60 mL	25 mL×2 100 mL×2
5	洗脱缓冲液 EB	15 mL	20 mL
6	吸附柱 AC	50 个	200 个
7	收集管 (2 mL)	50 个	200 个

02/保存条件

所有组分均室温 (15-25 °C) 保存。

03/产品概述

本试剂盒适用于快速提取真菌基因组 DNA，可在 1 h 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。

04/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

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

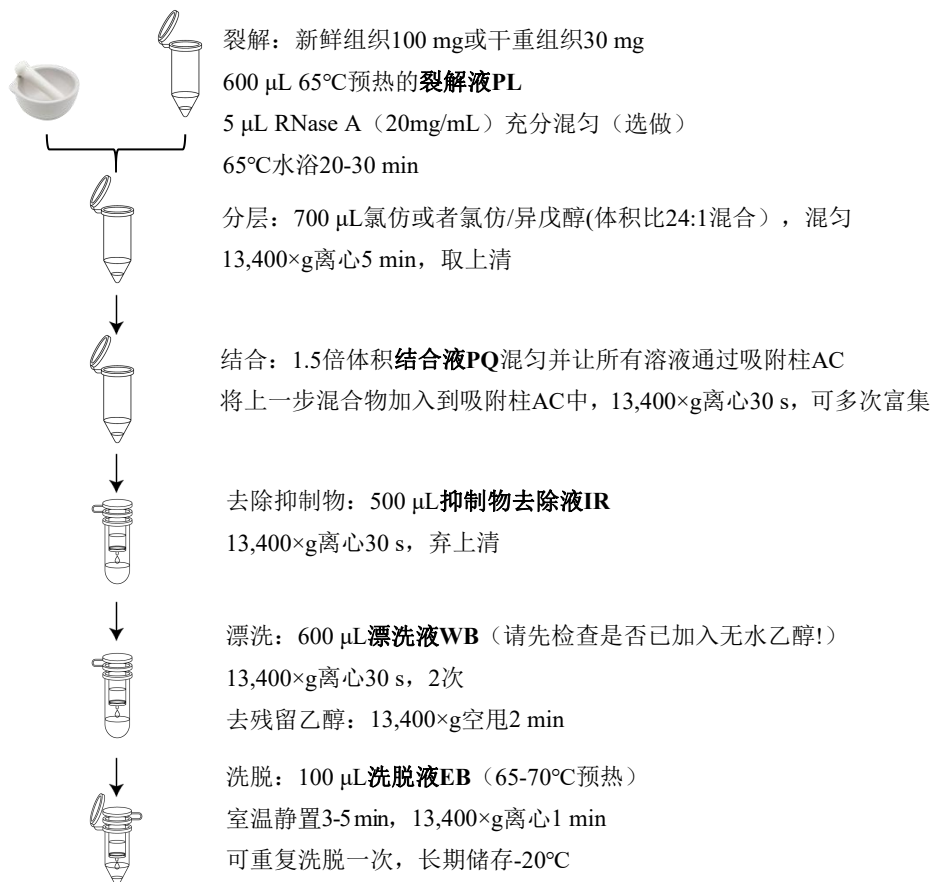
- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25°C）下进行。
- ◇ 裂解液 PL、结合液 PQ 或者抑制物去除液 IR 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 55°C 水浴几分钟帮助重新溶解，待恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 结合液 PQ 和抑制物去除液 IR 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤、眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、氧化、pH 值变化，各溶液使用后应及时盖紧瓶盖。
- ◇ 首次使用前请先在漂洗液 WB 中加入指定量的无水乙醇，充分混匀，加入后请及时在方框打钩标记已加入乙醇，以免多次加入！
- ◇ 取所需适量裂解液 PL 放置在 65 °C 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。

06/使用方案

1. 取适量新鲜真菌组织约 100 mg 或干重组织 30 mg，在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。
2. 转移细粉到 1.5 mL 离心管，不要解冻，加 600 μL 65°C 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°C 预热 5-10 min，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 10 s 的步骤帮助裂解。
3. 65°C 水浴 20-30 min，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 5-6 μL RNase A（20 mg/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，可以加 1% RNase A（10 mg/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 μL 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），12,000 rpm（13,400×g）离心 5 min。
 - ▲ 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 1.5 mL 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），12,000 rpm（13,400×g）离心

- 30 s, 弃废液 (溶液过多可多次离心)。
8. 加入500 μL 抑制物去除液IR, 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心30 s, 弃废液。
 9. 加入600 μL 漂洗液WB (请先检查是否已加入无水乙醇!), 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心30 s, 弃废液, 重复漂洗一遍。
 10. 将吸附柱AC放回空收集管中, 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心2 min, 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 μL 洗脱缓冲液EB (事先在65-70 $^{\circ}\text{C}$ 水浴中预热), 室温放置3-5 min, 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心1 min。将得到的溶液重新加入离心吸附柱中, 室温放置2 min, 12,000 rpm (13,400 \times g) 离心1 min。
- ▲ 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 μL , 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 $^{\circ}\text{C}$, 如果要长时间存放, 可以放置在-20 $^{\circ}\text{C}$ 。

07/流程简图



08/相关产品

- AA1904-A RNase A (10 mg/mL)
- AA1904-B RNase A (100 mg/mL)
- AA0401 SPARKclassic 真菌基因组DNA快速提取试剂盒
- 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

