真菌基因组DNA提取试剂盒

产品货号：26244

产品规格：50T/100T

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）。对于酵母菌和霉菌，可以用玻璃珠处理，而对于大型真菌，可直接用液氮研磨。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等下游应用实验。

产品组成：

产品组成	50T	100T
RNase A	1ml	1ml×2
蛋白酶 K	1ml	1ml×2
玻璃珠	6g	11g
溶液 A	10ml	20ml
溶液 B	10ml	20ml
漂洗液	15ml	15ml×2
洗脱液	10ml	20ml
吸附柱	50个	100个
收集管	50个	100个

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。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200ul溶液A，加入20ul 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200ul溶液A，用玻璃研磨器适当研磨分散菌丝，加入20ul 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（如蘑菇等）：称取50-100mg样品，倒入适量的液氮，立即研磨重复3次，使样品研成粉末（如无液氮，可加200ul溶液A后用玻璃研磨器适当研磨），加200ul溶液A，加入20ul RNase A，再加入100mg玻璃珠，在高速振荡器上振荡，约5min。

2. 加入20ul的蛋白酶K（10mg/ml），充分混匀，55℃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200ul溶液B，充分混匀。如出现白色沉淀，可放55℃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200ul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600ul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600ul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℃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50-200ul经65℃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℃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50ul，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℃，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50μg/ml双链DNA、40μg/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。

保存条件：室温(15℃-25℃) 干燥保存，复检期12个月，2-8℃保存时间更长。

扫一扫 加微信
上海尚宝生物科技有限公司
Shanghai Saint-Bio Biotechnology Co.,Ltd
地址：上海市徐汇区龙华路2518弄14号
电话：400-611-0007 13671551480
Q Q：807961520
邮箱：saintbio@126.com
http://www.saint-bio.com