



## Fungus Genomic DNA Extraction Kit (Spin Column)

### 真菌基因组 DNA 提取试剂盒(离心柱)

## 说明书

#### 【产品简介】

本产品用于快速提取各种真菌的基因组 DNA，其中包括酵母（如：Saccharomyces cerevisiae、Schizosaccharomyces pombe、Pichia pastoris）、动物病原真菌（如：Candida albicans、Aspergillus niger）和植物病原真菌（如：Collectotrichum musae、Fusarium oxysporum）。纯化的基因组 DNA 可用于多种研究，比如酶处理分析、Southern blotting、克隆、PCR 分析以及扩增等。

#### 【试剂盒组成】

试剂盒组成	LG-0109A( 50 次)	LG-0109B (100 次)
裂解液 PLB	36ml	72ml
RNase A(10mg/ml)	500 $\mu$ l	1ml
漂洗液 WB1	15ml	30ml
漂洗液 WB2	12ml	24ml
洗脱液 EB	2 $\times$ 2ml	4 $\times$ 2ml
离心纯化柱	50 个	100 个
说明书	1 份	1 份

**注意：**使用前请在按照标签提示漂洗液 WB1、WB2 中加入适量无水乙醇。如不立即使用，RNase 置于 4℃ 保存。

#### 【试剂运输及储存条件】

试剂运输可在室温环境下进行。4℃ 长期保存，有效期一年。

#### 【自备实验器材】

试剂类：异丙醇、无核酸酶水。

耗材类：经无核酸酶水处理并高压灭菌（121℃，30 分钟）的 2ml 和 1.5ml 离心管及 10 $\mu$ l、200 $\mu$ l、1000 $\mu$ l 吸嘴、一次性手套、口罩。

设备类：电动匀浆机、各种规格的移液器、低温和常温台式离心机、震荡仪、研钵，手术刀，金属镊，水浴锅，冰盒。

#### 【操作步骤】

1. 取适量真菌菌丝（200-500mg）用电子天平称量，放入液氮中研磨至粉末状。然后将该组织转移至加有 600 $\mu$ l 裂解液 PLB 的无核酸酶的离心管中，如仍有块状物质，用电动匀浆机在冰浴中匀浆组织约 15s 直到看不见明显的组织块。

**注意:**如果裂解液 PLB 有沉淀，需先在 65℃ 加热溶解后摇匀再使用。

处理标本前可以先往 PLB 中加入 1-4% 巯基乙醇。

2. 用移液器吸打混匀，65℃ 水浴 10-30min，每隔 5 min 上下轻轻颠倒混匀。
3. 4℃ 离心 10min，小心吸取上清至 RNase-Free 的离心管中，吸头尽量避免接触收集管中的残渣碎片。分离出的上清液中加入 10 $\mu$ l RNase A，用移液器缓慢吸打混匀，37℃ 放置 10 min。
4. 冷却至室温后，加入 500 $\mu$ l 三氯甲烷，充分混匀离心管直至混匀，切勿漩涡震荡。10,000 rpm 离心 5min。
5. 小心吸取上清至另一干净的无核酸酶的离心管中，加入 0.6 倍上清体积的预冷异丙醇，轻柔颠倒数次直至彻底混匀。
6. 吸取 700 $\mu$ l 裂解物以及有可能形成的沉淀至纯化柱，室温 11,000rpm 离心 15s。
7. 弃尽流穿液，重复步骤 6，直至将剩余样品全部通过纯化柱。



8. 往纯化柱内加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB1, 室温 11,000rpm 离心 15s, 弃尽流穿液。

**注意: 第一次使用前, 按照标签提示加入适量无水乙醇。**

9. 往纯化柱内加入 500 $\mu$ l 漂洗液 WB2, 重复步骤 9。

**注意: 第一次使用前, 按照标签提示加入适量无水乙醇。**

10. 室温 11,000rpm 离心空柱 1min 干燥硅胶膜。

11. 往膜中央滴加 50 $\mu$ l 65 $^{\circ}$ C 预热的洗脱液 EB, 室温放置 5min, 室温 11,000rpm 离心 1min, 收集 DNA。

12. 重复步骤 11。

**注意: 为增加基因组 DNA 的得率, 洗脱液体积不应少于 50 $\mu$ l, 体积过小会影响回收效率, 洗脱液的 pH 值也对洗脱效率有很大影响, 若用 ddH<sub>2</sub>O 洗脱液应保证 pH 7.0-8.5 范围内, pH 低于 7.0 会影响洗脱效率; DNA 需置于 -20 $^{\circ}$ C 保存, 以防止 DNA 降解。**

#### **【注意事项】**

1. 操作时请使用一次性手套和口罩。
2. 第一次使用前请确认是否已经往漂洗液WB1, WB2中加入适量乙醇。
3. 为增加洗脱效果, 可将洗脱液EB于65 $^{\circ}$ C水浴加热后使用。

#### **【有效期】**

本试剂盒有效期为12个月, 请在有效期内使用。

**注:** 本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。