天净沙系列

CAT#:220124

常温运输及保存

天净沙

真菌 DNA 提取试剂盒(过柱法)

Fungal DNA Extraction Kit

使用手册 V1.0

北京天净沙基因科技有限公司

网址：www.tjs.bio；电话：400-1078566；电邮：order@tjs.bio

产品及特点

本产品是真菌基因组 DNA 柱式提取试剂盒，可以用于真菌基因组 DNA 的快速提取。真菌 DNA 提取是一个难题，一是因为真菌有菌丝体、孢子等多种完全不同的结构形态，二是因为其细胞壁一般都很厚，比较难以破碎。本产品专门用于从真菌孢子和液体培养的真菌细胞中提取 DNA。它具有如下特点：

1. 即开即用，提供包括玻璃珠、离心吸附柱在内的所有试剂和耗材。
2. 既可以采取液氮研磨法破裂真菌，也可用玻璃珠法破碎真菌，两种方法均属于物理方法，远比基于蜗牛酶或破壁酶的温和化学破壁法重复性好，也不容易带入外援真菌 DNA（注：文献报道蜗牛酶或破壁酶中常常有外源真菌 DNA 污染，用于提取真菌 DNA 往往会造成污染）。
3. 本方法提取一个样品只需要 30 分钟，方便、快速和高效。
4. 一次可以处理 5 mL 的过夜真菌培养物，所得的基因组 DNA OD260/OD280 一般都在 1.8 左右，长度一般在 20 kb 左右，每毫升菌液的 DNA 产率一般在 1-3 μg。可以直接用于 PCR 和酶切等后续试验。
5. 不会发生离心柱堵塞现象。
6. 本产品足够 50 次微量纯化。
7. 本产品只能用于科研。

规格及成分

本产品采用大扁盒包装

成分	编号	规格	包装
真菌 DNA 提取溶液 A	220124a	25 mL	30 mL本色瓶
真菌 DNA 提取溶液 B	220124b	25 mL	30 mL棕玻瓶
真菌 DNA 提取溶液 C	220124c	75 mL	125 mL本色瓶
离心吸附柱	220144	50套	塑料袋
通用洗柱液	220143	50 mL	60 mL本色瓶
DNA 洗脱液（基因组纯化专用）	220125	10 mL	10 mL 本色瓶
酸洗玻璃珠(直径 400 μm-600 μm)	220126	25 g	30 mL 本色瓶
使用手册	220124sc	1份	无

运输及保存

常温运输及保存，保存期为一年。

自备试剂

无菌水。

使用方法

1. 收集菌体或孢子：

1.1、 对菌液：取 3-5 mL 过夜培养的真菌菌液(OD_{600} 一般在 1 以上)到干净的

	塑料离心管中，12000×g 离心 2 分钟弃上清留菌体沉淀。 1.2、 对菌落：用接种针在在培养基上刮取尽可能多的真菌菌落（约 50 mg），转移到装有 1 mL 自备无菌水的干净的塑料离心管中，洗涤下接种环上的菌体。12000×g 离心 2 分钟弃上清留菌体沉淀。 1.3、 对孢子材料，一般取 0.1 g 左右，直接加入到塑料离心管中，然后进入下一步操作。 2. 在上述真菌材料中加入自备的无菌水 1 mL，振荡半分钟后 12000×g 离心 2 分钟弃上清留菌体沉淀。此步用于洗涤菌体。 3. 裂解真菌： 3.1、 液氮研磨：在研钵中液氮研磨上述真菌材料成粉，然后转移到干净的离心管中，在离心管中加入 500 μL 真菌 DNA 提取溶液 A，常温涡旋震荡 3 分钟。 3.2、 玻璃珠破碎法：在没有液氮的条件下，采用此法。在菌体沉淀中加入 500 μL 真菌 DNA 提取溶液 A 和 0.5 克的酸洗玻璃珠，常温涡旋震荡 10 分钟。 4. 在离心管中加入 500 μL 真菌 DNA 提取溶液 B，涡旋震荡 3 分钟，12000 ×g 离心 2 分钟，将透明的上清液全部转移到一个 5 mL 的干净的塑料离心管中。不要取下层的液体。 5. 在上清中加入 3 倍体积的真菌 DNA 提取溶液 C，颠倒数次混匀后，分三次上离心吸附柱，每次上柱后均先室温放置 2 分钟，然后 12000 ×g 离心 1 分钟，倒掉穿透液，再第二次上柱，重复上面的操作，直到挂柱步骤完成。 6. 在离心吸附柱中加入 500 μL 通用洗柱液，12000 ×g 离心 1 分钟，倒掉穿透液。此步可以洗涤掉杂质。 7. 重复上步操作一次。 8. 12000 ×g 空柱离心 1 分钟。 9. 加入 50-100 μL DNA 洗脱液（基因组提取专用），室温放置 1 分钟以上，12000 ×g 离心 1 分钟，穿透液即为真菌 DNA 样品。 10. 为了得到更多的 DNA 样品，可以重复上步操作 1-2 次。 11. 所得 DNA 即可立即使用或放冰箱长期保存。
关联产品	真菌 RNA 提取试剂盒