

Version: AA 4.0 (2024.02.22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: AA0403

01/产品组分

序号	组分	50 次 AA0403-A	200 次 AA0403-B
1	RNase A (10 mg/mL)	250 µL	1 mL
2	缓冲液 AP1	20 mL	80 mL
3	缓冲液 AP2	7 mL	26 mL
4	缓冲液 AP3/E	15 mL	25 mL×2
		第一次使用前按说明加指定量无水乙醇 30 mL	50 mL×2
5	漂洗液 WB	15 mL	25 mL×2
		第一次使用前按说明加指定量无水乙醇 60 mL	100 mL×2
6	洗脱缓冲液 EB	15 mL	20 mL
7	吸附柱 AC	50 个	200 个
8	收集管 (2 mL)	50 个	200 个

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

该试剂盒采用 DNA 吸附柱和新型独特的溶液系统, 适合于从真菌组织细胞中快速简单地提取基因组 DNA。可在 30 min 内完成一个或多个真菌样品 DNA 的提取工作。提取过程不需要用到有毒的酚氯仿等有机试剂抽提, 也不需要用到耗时的异丙醇或乙醇沉淀, 并能快速高效地去除多糖类、酚类和酶抑制物等杂质, 纯化的 DNA 可直接用于 PCR、酶切和杂交等实验。

新鲜或干燥的真菌组织 (细胞) 磨碎后经裂解液裂解; 蛋白质、多糖、细胞残片被沉淀去除; 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-离心的步骤, 进一步将多糖, 多酚和细胞代谢物, 蛋白等杂质去除, 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。

04/自备材料

无水乙醇、2% PVP40,000（用于多糖含量高真菌）、 β -巯基乙醇（用于酚含量高真菌）

05/注意事项

请务必在使用本试剂盒之前阅读此注意事项

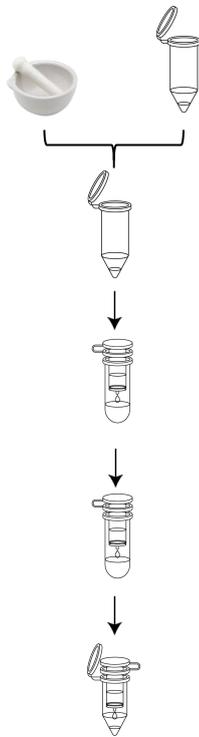
- ◇ 所有离心操作步骤，均在室温（15-25°C）下进行。
- ◇ 开始实验前根据需要将水浴预热到 65°C 备用。
- ◇ 缓冲液 AP1、AP3/E 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 65°C 水浴帮助重新溶解（AP3 加入乙醇前可加热，加入乙醇后不可加热），恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。
- ◇ 缓冲液 AP3/E 中含有刺激性化合物，操作时要戴乳胶手套，避免沾染皮肤，眼睛和衣服。若沾染皮肤、眼睛时，要用大量清水或者生理盐水冲洗。
- ◇ 不同来源的真菌组织细胞材料中提取 DNA 的量会有差异，一般 100 mg 新鲜组织典型产量可达 3-25 μ g。
- ◇ 避免试剂长时间暴露于空气中产生挥发、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！
- ◇ 首次使用前请先在缓冲液 AP3/E 中加入指定量无水乙醇！

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，在液氮中充分碾磨成细粉。
2. 转移细粉至一个 1.5 mL 离心管，不要解冻，加入 400 μ L 缓冲液 AP1 和 4 μ L RNase A（10 mg/mL），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。
 - ▲ 可选：多糖含量特别高的时候可以在 AP1 加入 2% PVP 40,000；多酚含量特别高的时候可以在 AP1 中加入 0.2% β -巯基乙醇。也可两者同时加入。
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 μ L 缓冲液 AP2，充分混匀，冰上放置 5 min，12,000 rpm（13,400 \times g）离心 5-10 min，小心吸取上清到一个新的 1.5 mL 离心管，注意不要吸到界面物质。
5. 计算上清量，加入 1.5 倍体积的缓冲液 AP3/E（请先检查是否已加入无水乙醇！），立即吹打混匀。
 - ▲ 加入 AP3/E 可能会出现絮状沉淀，但不影响 DNA 提取。注意将 AP3/E 直接加入到上清并立即吹打混匀。
6. 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 \times g）离心 30-60 s，弃废液（溶液过多可多次离心）。

7. 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，重复该步骤一遍。
8. 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。
9. 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，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。
10. 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



裂解：新鲜组织100 mg或干重组织20 mg
400 μL 缓冲液AP1，4 μL RNase A（10 mg/mL）
65 $^{\circ}\text{C}$ 水浴10 min

去蛋白：130 μL 缓冲液AP2，充分混匀，冰上放置5 min
13,400 \times g离心5 -10 min，取上清

结合：1.5倍体积缓冲液 AP3/E（请先检查是否已加入无水乙醇！）
将混合物加入吸附柱AC，13,400 \times g离心30-60 s，可多次富集

去盐离子：600 μL 漂洗液WB（请先检查是否已加入无水乙醇！）
13,400 \times g离心30 s，弃上清；两次
去残留乙醇：13,400 \times g空甩2 min

洗脱：100 μL 洗脱液EB（65-70 $^{\circ}\text{C}$ 预热）
室温静置3-5 min，13,400 \times g离心1 min
可重复洗脱一次，长期储存-20 $^{\circ}\text{C}$

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提取试剂盒
- AA0402 SPARKeasy 真菌基因组DNA快速提取试剂盒 (复杂型、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

