Version：AA4.0（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：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	15 mL	30 mL×2
		第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇	
		30 mL	60 mL×2
3	抑制物去除液 IR	25 mL	100 mL
4	漂洗液 WB	15 mL	25 mL×2
		第一次使用前按如下标注加指定量无水乙醇	
		60 mL	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 ℃）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℃）下进行。

◇ 裂解液 PL、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℃水浴几分钟帮助重新溶解，恢复澄清透明后冷却到室温即可使用。结合液 PQ 盐酸胍浓度高，加入乙醇后可能出现一些沉淀不影响使用，直接取上清用。

◇ 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 和结合液 PQ 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 ℃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℃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。

   ▲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℃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℃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。

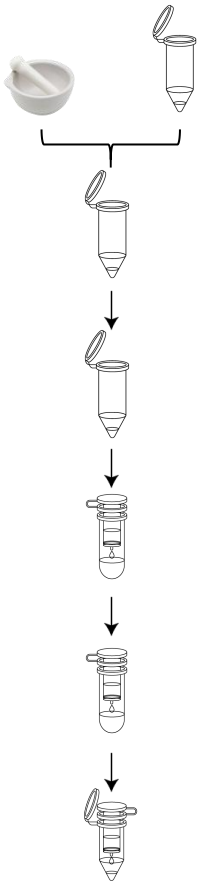
   ▲可选步骤：如上清比较浑浊，则可重复步骤4一遍，直到得到透亮上清。
6. 较精确估算上清量，加入1.5倍体积结合液PQ（请先检查是否已加入无水乙醇！）后立刻涡旋，充分混匀。此时可能出现沉淀，但不影响实验结果。

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×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×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×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℃水浴中预热），室温放置3-5 min，12,000 rpm（13,400×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×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℃，如果要长时间存放，可以放置在-20℃。

07/流程简图



裂解：新鲜组织100 mg或干重组织30 mg
600 μL 65℃预热的**裂解液PL**
5 μL RNase A（20mg/mL）充分混匀（选做）
65℃水浴20-30 min

分层：700 μL氯仿或者氯仿/异戊醇(体积比24:1混合），混匀
13,400×g离心5 min，取上清

结合：1.5倍体积**结合液PQ**（请先检查是否已加入无水乙醇！）混匀
并让所有溶液通过吸附柱AC

去除抑制物：500 μL**抑制物去除液IR**
13,400×g离心30 s，弃上清

漂洗：600 μL**漂洗液WB**（请先检查是否已加入无水乙醇!）
13,400×g离心30 s，2次
去残留乙醇：13,400×g空甩2 min

洗脱：100 μL**洗脱液EB**（65-70℃预热）
室温静置3-5 min，13,400×g离心1 min
可重复洗脱一次，长期储存-20℃

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