

常见问题

1. 柱子堵塞

- 转移上清液时带有太多沉淀：在下次提取过程中，转移上清液时不要吸到沉淀物。若吸到沉淀物，可把上清液再离心一次。
- 裂解液非常粘稠：某些真菌样品中含有丰富的粘液和高分子多糖，会让裂解液变得非常粘稠。减少样品用量或增加 Buffer FL 的用量。
- 离心速度太低：提高离心速度。

2. DNA 产量低

- 样品匀浆不充分：用液氮将样品研磨细小的粉末状。或延长珠磨仪的研磨时间和速度。
- 样品裂解不充分：加入 Buffer FL 后，没有让真菌样品充分分散。如涡旋无法让样品充分分散，可用移液枪吸打几次。
- 产生絮状沉淀时，没有打散：当加入 Buffer FB 时，有些样品会产生明显的絮状沉淀物，必须用移液枪吸打尽量打散沉淀物。
- Buffer AW2 中乙醇没有加入或加入量不够：按瓶子标签所示，加入正确的乙醇。
- 洗脱不充分：洗脱液需加到膜中央，增加洗脱体积或次数。



EasySC DNA Purification Kit from fungus 真菌 DNA 提取试剂盒 (离心柱型)

产品概述

EasySC DNA Purification Kit from fungus采用硅胶柱纯化技术，简化真菌DNA提取流程。无需酚氯仿抽提和耗时的醇类沉淀。本试剂盒适合于从小于100 mg真菌样品和寄生真菌样品中提取高纯度的总DNA。该方法得到的 DNA 可直接用于 PCR, SSR, AFLP, RAPD, 以及 Southern blot 等实验。

产品特点

- ❖ 重复性好 - 硅胶柱纯化技术，每次都能获得理想的结果；
- ❖ 高纯 - 得到的 DNA 可直接用于各种下游应用；
- ❖ 快速 - 柱式操作，30 分钟内就可以完成数个样品的抽提工作；
- ❖ 安全 - 无需酚氯仿抽提。

适用范围

从真菌样品中提取总 DNA。

ABP Biosciences Inc

安迪福诺生物科技（武汉）有限公司

地址：武汉市东湖新技术开发区高新大道666号

光谷生物城生物创新园C2-4栋五楼

电话：400-066-7718 邮箱：info@abpbio.com

网址：www.abpbio.com www.abpbio.com.cn



试剂盒组分

Kit Component	D121-1 (50 preps)	D121-2 (200 preps)
Buffer FL	25 mL	100 mL
Buffer FP	10 mL	40 mL
Buffer FB	40 mL	160 mL
Buffer AW2*	15 mL	50 mL
Buffer AE	15 mL	50 mL
Mini Column	50	200
2 mL Collection Tube	50	200

* Buffer AW2 使用前须按瓶子标签所示，加入无水乙醇进行稀释。

保存条件

本试剂盒可在室温保存 12 个月。

实验准备

在使用之前，请仔细阅读本说明书，以便熟悉每一步的操作。

1. 按瓶子标签所示，加入适量的无水乙醇至 Buffer AW2 中，于室温保存。
2. 准备无核酸和核酸酶污染的 Tip 头、离心管。
3. 准备 10 mg/mL 的 RNase A。
4. 所有离心均在室温下进行。

实验步骤

该方案采用液氮研磨裂解真菌细胞壁的方法，适合于从大多数的真菌样品中提取高纯度的总 DNA。纯化的 DNA 包括基因组 DNA 和叶绿体 DNA。

1. 真菌样品的收集:

- ❖ 固体培养的真菌：用接种环或细胞刮从培养基上刮下真菌样品，转移至研钵中，立即加入液氮将真菌研磨成细小的粉末。
- ❖ 液体培养的真菌：离心或过滤收集真菌，尽量去除培养液。把湿的菌丝体转移至研钵中，立即加入液氮将真菌研磨成细小的粉末。

❖ 真菌性寄生真菌: 将样品转移至研钵中，用液氮将样品研磨成粉末。

2. 转移 ≤100 mg 已研磨的样品至 1.5 mL 离心管中。立即加入 400 μL Buffer FL 和 10 μL RNase A (10 mg/mL) 溶液，最高速度涡旋使样品充分分散。65°C 处理 10 分钟，水浴期间涡旋混匀 2 次。
3. 加入 140 μL Buffer FP 至样品中。涡旋 30 秒混匀。冰上放置 10 分钟。
Note: 这一步用来沉淀蛋白及多糖。
4. 14,000 x g 离心 5 分钟。小心转移 400 μL 上清液至新的离心管中。
Note: 若上清液体积不够 400 μL，按比例调整 Buffer FB 的用量。
5. 加入 1.5 倍体积(上清液体积)Buffer FB 至样品中。涡旋混匀 30 秒。若出现明显的絮状沉淀，用移液枪拍打尽量打散沉淀。
6. 把 DNA Mini Column 装在 2 mL 收集管中。转移一半混合液 (包括沉淀) 至柱子中，8,000 x g 离心 1 分钟。
7. 倒弃滤液把柱子装回收集管。把剩余混合液转移至柱子中，8,000 xg 离心 1 分钟。
8. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600 μL Buffer AW2 至柱子中，8,000 x g 离心 1 分钟。
9. 倒弃滤液，把柱子装回收集管中。加入 600 μL Buffer AW2 至柱子中，8,000 x g 离心 1 分钟。
10. 倒弃滤液，把柱子套回收集管中。12,000 x g 离心 3 分钟。
11. 将柱子装在新的 1.5 mL 离心管中。加入 30~100 μL 预热至 65°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，12,000 x g 离心 1 分钟。
12. 再加入 30~100 μL 预热至 65°C 的 Buffer AE 至柱子的膜中央。放置 3 分钟，12,000 x g 离心 1 分钟。
13. 弃去柱子，把 DNA 保存于 -20°C。