常 见 问 题

1. 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**:** 增加洗脱体积或次数。

EasyMag DNA Purification Kit from fungus
真菌 DNA 提取试剂盒

（磁珠法）

产品概述

EasyMag DNA Purification Kit from fungus采用可特异性结合核酸的磁珠和独特的缓冲液系统，适用于从小于100 mg真菌样品和寄生真菌样品中提取高纯度的总DNA 。整个过程无需酚氯仿抽提，也无需耗时的醇类沉淀。纯化的DNA可直接可直接用于 PCR, SSR, AFLP, RAPD, 以及 Southern blot 等实验。

产品特点

- 高纯度 DNA - 得到的 DNA 可直接用于各种下游应用；
- 快速 - 简化的流程，可在 30 分钟内完成数个样品的提取工作；
- 广谱性 - 可处理各种真菌；
- 安全 - 无需酚氯仿抽提，无需醇类沉淀。

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	D122-1 (50 preps)	D122-2 (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
MagBinding Beads	2.5 mL	10 mL

***** 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

本试剂盒除 MagBinding Beads 外，其它组份可在室温保存 12 个月。MagBinding Beads 室温运 输，收到产品后把 MagBinding Beads 保存于 2-8 °C。

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。65ºC 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，用移液枪吸打尽量打散沉淀。
6. 加入 50 µL MagBinding Beads 至样品中，高速涡旋 15~20 秒。振荡孵育 5 min。
7. 把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
8. 加入 600 µL Buffer AW2 (使用前检查是否已加入无水乙醇) 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸弃上清，不要碰触磁珠。
9. 重复第 8 步洗涤一次。
10. 保持样品始终处于磁力架上，室温下开盖干燥磁珠约 10 - 20 min。
11. 加入 50-100 µL Buffer AE 至离心管中，用移液枪或涡旋仪充分混匀。于 55 °C 烘箱中放置 4 分钟，然后把离心管转移到磁力架上再室温静置 2 分钟，至溶液澄清。用移液枪小心吸取上清，并转移到新的离心管中。
12. 把 DNA 保存于-20°C。