

InniPure™ Fungal Genomic DNA Rapid Extraction Kit

中文名称: 真菌基因组 DNA 快速提取试剂盒

产品编号: ND0305-050 / ND0305-100 / ND0305-200

包装规格: 50 rxns / 100 rxns / 200 rxns

存储条件: 本试剂盒在室温储存 12 个月不影响使用效果。RNase A 于 -20℃ 保存。

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 分钟内完成一个或多个 100mg 新鲜或 20mg 干燥的真菌样品 DNA 的纯化工作。提取过程不需要用到有毒的酚氯仿等有机抽提, 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。

产品特点

1. 离心吸附柱内硅基质膜全部采用进口特制吸附膜, 柱与柱之间吸附量差异极小, 可重复性好。克服了国产试剂盒膜质量不稳定的弊端。
2. 不需要使用有毒的苯酚等试剂, 也不需要乙醇沉淀等步骤。
3. 快速, 简捷, 单个样品操作一般可在 1 小时内完成。
4. 数种去多糖、多酚成份和多次柱漂洗确保高纯度, OD_{260}/OD_{280} 典型的比值达 1.7-1.9, 可直接用于 PCR, Southern-blot 和各种酶切反应。

试剂盒组成

Component	ND0305-050 (50 rxns)	ND0305-100 (100 rxns)	ND0305-200(200 rxns)
RNase A (10mg/ml)	250 μ l	500 μ l	1 ml
Buffer AP1	20 ml	40 ml	80 ml
Buffer AP2	7 ml	13 ml	26 ml
Buffer AP3/E	15 ml	25 ml	50 ml
Buffer WB	13 ml	25 ml	50 ml
Buffer EB	15 ml	20 ml	40 ml
吸附柱 AC	50 个	100 个	200 个
2 ml 收集管	50 个	100 个	200 个

操作步骤

提示:

第一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! 第一次使用前请先在缓冲液 AP3/E 中加入指定量无水乙醇!

1. 取适量真菌组织在研钵中加入液氮充分碾磨成细粉。

转移细粉(新鲜真菌组织 100 mg 或干重组织 20 mg) 到一个 1.5ml 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), 旋涡振荡, 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 秒的步骤帮助裂解。大多数情况下不需要离心去除未完全裂解的组织，因为后面有一个离心去除的步骤。

可选：多糖含量特别高的时候可以在 AP1 加入 2% PVP40,000；多酚含量特别高的时候可以在 AP1 中加入 0.2% beta 巯基乙醇。也可两者同时加入。

2. 65℃水浴 10 分钟，在水浴过程中颠倒离心管 2-3 次，混合样品。
3. 加入 130 μ l 缓冲液 AP2，充分混匀，冰上放置 5 分钟，14,000 rpm 离心 5-10 分钟，小心吸取上清到一个新的 1.5ml 离心管，注意不要吸到界面物质。
4. 计算上清量，加入 1.5 倍体积的 AP3/E（请先检查是否已加入无水乙醇！），立即吹打混匀。
5. 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）13,000 rpm 离心 30-60 秒，倒掉收集管中的废液（先加 650 μ l 离心，弃废液，再加入剩余的溶液，再次离心）。
7. 加入 600 μ l 漂洗液 WB（请先检查是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
8. 加入 600 μ l 漂洗液 WB，12,000 rpm 离心 30 秒，弃掉废液。
9. 将吸附柱 AC 放回空收集管中，13,000 rpm 离心 2 分钟，尽量除去漂洗液，以免漂洗液中残留乙醇抑制下游反应。
10. 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 μ l 洗脱缓冲液 EB，室温放置 3-5 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟。将得到的溶液重新加入吸附柱中，室温放置 2 分钟，12,000 rpm 离心 1 分钟。

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 μ l，体积过小降低 DNA 洗脱效率，减少 DNA 产量。

11. DNA 可以存放在 2-8℃,如果要长时间存放，可以放置在 -20℃。

注意事项

1. 缓冲液 AP1、AP3/E 低温时可能出现析出和沉淀，可以在 65℃水浴几分钟帮助重新溶解（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。
2. 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盖子。
3. 所有的离心步骤均在室温完成，使用转速可以达到 13,000 rpm 的传统台式离心机。
4. 开始实验前将需要的水浴先预热到 65℃备用。
5. 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。
6. 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 100mg 新鲜组织典型产量可达 3-25 μ g。
7. 洗脱液 EB 不含有螯合剂 EDTA，不影响下游酶切、连接等反应。也可以使用水洗脱，但应该确保 pH 大于 7.5，pH 过低影响洗脱效率。用水洗脱 DNA 应该保存在 -20℃。DNA 如果需要长期保存，可以用 TE 缓冲液洗脱（10mM Tris-HCl, 1mM EDTA, pH 8.0），但是 EDTA 可能影响下游酶切反应，使用时可以适当稀释。

