

# Biospin 真菌基因组 DNA 提取试剂盒

## 试剂盒组成

货号	BSC14S1	BSC14M1
试剂盒组成	50 人份	100 人份
LE Buffer	20 ml	40 ml
DA Buffer	7.5 ml	15 ml
E Binding Buffer	14ml (使用前加入 28ml 无水乙醇)	28ml (使用前加入 56ml 无水乙醇)
G Binding Buffer	25ml	50ml
Wash Buffer	25.2ml (使用前加入 37.8ml 无水乙醇)	50.4ml (使用前加入 75.6ml 无水乙醇)
Elution Buffer	10ml	20ml
Spin column	50	100
说明书	1 份	1 份

## 储存条件

- ◆ 保存于室温（15-25℃）。
- ◆ 所有试剂可稳定保存 18 个月。

## 介 绍

本产品提供了一套从各种真菌中提取基因组DNA的简单、快速、经济的方法。该方法是选择性地以Biospin膜系统为基础，可以在1小时以内完成提取纯化。该方法的步骤简单，不需使用特殊的昂贵设备，而且完全避免了与有毒试剂（如酚、氯仿等）的接触。通常，使用本产品可以从100mg以下的真菌组织或5ml以下的酵母培养物中提取2.5~30 μg的基因组DNA。

提取纯化后的DNA，可以直接用于PCR/Real-time PCR，sequencing，Southern blot，mutant analysis，SNP等下游应用实验。

## 原 理

首先研磨粉碎的真菌组织或细胞在LE缓冲液裂解完全，基因组DNA被释放出来。在加入DA缓冲液沉淀离心后，去除大部分杂质。然后，加入的E Binding 缓冲液，在适当的盐分及pH值的作用下，DNA被特异吸附于Biospin膜上。通过洗涤，可将蛋白质等残留的杂质去除。最后使用Elution Buffer将DNA从膜上洗脱下来，从而获得基因组DNA。

## 需要的配套设备和材料

- \* 无菌1.5ml离心管
- \* 各种规格移液器和无菌移液器吸头
- \* 离心机（最大转速>14,000g）
- \* 无水乙醇
- \* 漩涡振荡器

## 重要提示

- 1 请在第一次使用前，向Wash Buffer中加入乙醇（无水）并混合均匀。
- 2 请在第一次使用前，向E Binding Buffer中加入乙醇（无水）并混合均匀。
- 3 如果LE Buffer 中出现浑浊，请于37° C环境中适当温育，待浑浊物质消失后再使用。
- 4 配制Sorbitol buffer：准确称取18.217g山梨醇和3.7224g EDTA二钠盐，溶解于100ml灭菌纯水中。

## 操作步骤

- 1 样本处理：
  - a 对于子实体类真菌组织，在液化氮或冰浴中将真菌组织研磨粉碎。
  - b 对于液体真菌培养物，请取适当量培养物，9,000 x g 离心1分钟，并弃去上清液。
  - c 对于液体酵母培养物，也可选择取适当量培养物，9,000 x g 离心1分钟，并弃去上清液。向菌体中加入600  $\mu$ l Sorbitol buffer，并加100~200U的 Lyticase（客户自备），充分混匀，于37°C温育30分钟。然后于6,000 x g 离心1分钟，并弃去上清液，收集沉淀。
- 2 取不多于50mg磨碎的真菌组织，放入1.5 或 2.0ml微量离心管中。或离心收集的样本。  
注意：样本的磨碎程度将影响裂解效果。
- 3 加400  $\mu$ l LE Buffer，并混合均匀。注意：混合充分将有助于裂解。（可选：加入4  $\mu$ l 的100mg/ml RNase A）
- 4 于65°C环境中温浴15~30分钟（温育过程中可间或振荡离心管2~3次），然后移出。  
对难于裂解的样本请适当延长温浴时间。
- 5 加入130  $\mu$ l DA Buffer，混合均匀后于冰浴中放置5分钟。
- 6 于 14,000 x g 离心3分钟。
- 7 将上清液转移到一个新的 1.5ml离心管。
- 8 加 750  $\mu$ l 或滤液体积1.5倍的 E Binding Buffer，并混合均匀。
- 9 将混合液体转移至 Spin column。于 6,000 x g 离心1分钟，并弃去接液管中液体。  
由于混合液体体积大于750 $\mu$ l，请分2次离心过柱。

- 10 向 Spin column 中加入500  $\mu$ l的G Binding Buffer。于 10,000 x  $g$  离心30秒，并弃去接液管中液体。
- 11 Spin column 中加入600  $\mu$ l的Wash Buffer。于 10,000 x  $g$  离心30秒，并弃去接液管中液体。
12. 重复步骤11，一次。
13. 再次将Spin column于10,000 x  $g$  离心1分钟，并将Spin column转移至一个新的1.5ml 离心管。
14. 向 Spin column 中加入100  $\mu$ l 至 200  $\mu$ l Elution Buffer，并于室温温育1分钟。
15. 于12,000 x  $g$  离心1分钟，并弃去Spin column。1.5ml离心管中液体含有DNA。
16. 提取的DNA可直接用于各种下游应用实验，如不立即使用，请于-20℃保存。

## 常见问题及对策

问：本试剂盒能从那些真菌中提取 DNA？

答：可从酵母培养物、真菌子实体、丝状真菌中提取 DNA。

问：说明书中，提取酵母 DNA 的方法有 2 种，请问他们的区别在哪里？

答：这两种方法的区别在于是否用裂解酶进行消化，使用裂解酶进行消化，可以提高 DNA 的得率，反之可以简化操作步骤，缩短操作时间。

问：如何去除提取的 DNA 中有 RNA 污染？

答：可按说明书中的方法加入 RNase A 来消化去除 RNA。

问：提取的基因组 DNA 片断长度是多少？

答：提取的基因组DNA片段长度一般为30~50KB。

## 核酸的检测分析及图例

实验 1：提取  $1.5 \times 10^7$  酵母细胞

