

M5 Fungal Genomic DNA Kit 使用说明书

产品名称	单位	货号
M5 Fungal Genomic DNA Kit	50T	MF070-plus-01
M5 Fungal Genomic DNA Kit	200T	MF070- plus-04

【储存条件】

室温保存

【试剂盒组分】

	MF070-plus-01	MF070-plus-04
Buffer LP1	25 ml	100 ml
Buffer LP2	10 ml	40 ml
Buffer LP3 (concentrate)	21 ml	84 ml
Buffer GW2 (concentrate)	15 ml	75 ml
Buffer GE	15 ml	60 ml
RNase A (10mg/ml)	300 μ l	1.25 ml
Spin Columns DM with Collection Tubes	50	200

【产品简介】

本试剂盒采用高效、专一结合核酸的离心吸附柱和独特的缓冲系统，适合从各种不同的新鲜或冻存真菌组织中提取基因组DNA，并可最大限度去除真菌组织中的杂质。本试剂盒无需使用酚/氯仿抽提，操作安全。提取的真菌基因组DNA片段大、纯度高、质量稳定可靠，适用于PCR、荧光定量PCR、分子标记、文库构建等实验。

【自备试剂】

无水乙醇。

【实验前准备及注意事项】

1. 样品应避免反复冻融，否则会导致提取的DNA片段较小且提取量下降。
2. 第一次使用前应按照试剂瓶标签的说明在Buffer LP3和Buffer GW2中加入无水乙醇。使用前请检查Buffer LP1和Buffer LP2是否出现结晶或者沉淀，如有结晶或者沉淀，请将Buffer LP1和Buffer LP2于56°C水浴重新溶解。

【操作步骤】

1. 取真菌新鲜菌丝组织**100 mg**左右或干重组织约**20 mg**，加入液氮充分研磨。
2. 将研磨后的粉末收集到离心管（自备）中，加入**400 μ l Buffer LP1**和**6 μ l RNase A (10 mg/ml)**，涡旋振荡1分钟，室温放置10分钟，使其充分裂解。

注意：1) 使用涡旋振荡或移液器吹打，充分裂解组织，组织裂解不完全会影响最终的DNA得率。

2) 请勿在使用前将Buffer LP1与RNase A混合。

3. 加入**130 μ l Buffer LP2**，混匀，涡旋震荡1分钟。
4. 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心5分钟，将上清移至新的离心管（自备）中。
5. 加入**1.5倍体积的Buffer LP3**（使用前检查是否已加入无水乙醇），充分混匀（如500 μ l滤液加入750 μ l Buffer LP3）。

注意：加入Buffer LP3后应立即混匀，可能会产生沉淀但不影响后续实验。

6. 将上步所得溶液和沉淀全部加入到已装入收集管的吸附柱（Spin Columns DM）中，若一次不能加完溶液，可分多次转入。12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

7. 向吸附柱中加入**500 µl Buffer GW2（使用前检查是否已加入无水乙醇）**，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

注意：如吸附膜呈现绿色，向吸附柱中加入500 µl无水乙醇，12,000 rpm离心1分钟，倒掉收集管中的废液，将吸附柱重新放回收集管中。

8. 重复步骤7.

9. 12,000 rpm离心2分钟，倒掉收集管中的废液。将吸附柱置于室温数分钟，以彻底晾干。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。

10. 将吸附柱放到一个新离心管（自备）中，向吸附膜的中间部位悬空滴加**50-100 µl Buffer GE或灭菌水**，室温放置2-5分钟，12,000 rpm离心1分钟，收集DNA溶液。-20°C保存DNA。

注意：1) 如果下游实验对pH值或EDTA敏感，可以用灭菌水洗脱。洗脱液的pH值对洗脱效率有很大影响，若用水做洗脱液应保证其pH值在7.0-8.5（可以用NaOH将水的pH值调到此范围），pH值低于7.0时洗脱效率不高。

2) 离心之前室温孵育5分钟可以增加产量。

3) 如果要提高DNA的终浓度，可以将步骤10所得的DNA洗脱液重新加至吸附膜上，重复步骤10；若洗脱体积小于100 µl，可以增加DNA的终浓度，但可能会减少DNA的总产量。如果所得DNA的量小于1 µg，推荐用50 µl Buffer GE进行洗脱。

4) 因为保存在水中的DNA会受到酸性水解作用的影响，如需长期保存，推荐用Buffer GE洗脱并于-20°C保存。



【备注】

本产品仅供科研使用。在确认产品质量出现问题时，本公司承诺为客户免费更换等量的质量合格产品。