**真菌基因组DNA小量提取试剂盒 MBF4890**

**Technical literature is available at:** [**www.mesgenbio.com**](http://www.mesgenbio.com)**. E-mail MesGen Technical Services if you have questions on use of this system: tech@mesgenbio.com**

****

**产品简介**

真菌是具有真核和细胞壁的异养生物，种属很多，属达1万以上，种超过10万个。真菌通常又分为三类，即酵母菌、霉菌和蕈菌（大型真菌）。对于酵母菌和霉菌，可以用玻璃珠处理，而对于大型真菌，可直接用液氮研磨。经过前期处理的菌液，用硅质膜吸附，即可得到高纯度的基因组。

**产品特点**

1. 操作简单、快速：1-3h即可获得超纯的真菌基因组DNA；

2. 无毒害：无需使用酚、氯仿等有害试剂，操作安全；

3. 产物纯度高：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；

**产品包装**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **组分** | **50 tests** | **100 tests** |
| **Solution A** | 10mL | 20mL |
| **Solution B** | 10mL | 20mL |
| **Binding Buffer** | 15mL | 30mL |
| **DNA Wash Buffer** | 12mL | 24mL |
| **Elution Buffer** | 10mL | 20mL |
| **RNase A** | 1mL | 2mL |
| **Proteinase K** | 1mL | 2mL |

**操作方法**

1、样品的处理：

1） 对于酵母菌，取1-2ml培养好的菌液，离心收集，弃上清。加入200ul **Solution A**，加入20ul **RNase A**，再加入100mg玻璃珠（破壁用玻璃珠，直径<106um，客户自备，也可以向我们订购，货号MB0001），在高速振荡器上振荡，约5-10min；

2） 霉菌（孢子也可相同处理）：取50-100mg菌丝，加200ul **Solution A**，用玻璃研磨器适当研磨分散菌丝，加入20ul **RNase A**，再加入100mg玻璃珠，在高速振荡器上振荡，约30min；

3） 大型真菌（如蘑菇等）：称取50-100mg样品，倒入适量的液氮，立即研磨重复3次，使样品研成粉末，加200ul **Solution A**，加入20ul **RNase A**，再加入100mg玻璃珠，在高速振荡器上振荡，约5min；

2、 加入20ul的**Proteinase K**（10mg/ml），充分混匀，60℃水浴消化30min，消化期间可颠倒离心管混匀数次， 12000rpm离心2min。将上清转移到一个新的离心管中。如有沉淀，可再次离心；

3、 在上清中加入200ul **Solution B**，充分混匀，放60℃水浴5min，溶液逐步变清亮。如溶液未变清亮，说明样品消化不彻底，可能导致提取的DNA量少及不纯，还有可能导致上柱后堵柱子，可适当增加消化时间；12000rpm离心2min，取上清，转移到新的离心管中；

4、 加入300ul **Binding Buffer**，充分混匀，将溶液加入吸附柱中，也可以分次加入柱中；

5、12000rpm离心1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中；

6、向吸附柱中加入500ul **DNA Wash Buffer**（使用前请先检查是否已加入规定体积的无水乙醇），12000rpm离心1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中；

7、向吸附柱中加入500ul **DNA Wash Buffer**，12000rpm离心1min，弃废液，将吸附柱放入收集管中；

8、12000rpm离心2min，将吸附柱置于室温或50℃温箱放置数分钟，目的是将吸附柱中残余的漂洗液去除，否则漂洗液中的乙醇会影响后续的实验如酶切、PCR等；

9、将吸附柱放入一个干净的离心管中，向吸附膜中央悬空滴加50-200ul经65℃水浴预热的**Elution Buffer**，室温放置5min，12000rpm离心1min；

10、离心所得洗脱液再加入吸附柱中，室温放置2min，12000rpm离心2min，即可得到高质量的基因组DNA；

**注意事项**

1. 由于真菌种类万千，对于一些特别难处理的真菌，可用液氮研磨，再用玻璃珠振荡，蛋白酶K处理，一般都可以得到一定量的基因组DNA，如电泳检测很弱，一般PCR都会有较好结果；

2. 如果DNA提取量很少，可加长玻璃珠处理时间，如果提取DNA成弥散短条带，可减少玻璃珠处理时间。

3. 洗脱缓冲液的体积最好不少于50ul，体积过小会影响回收效率；洗脱液的pH值对洗脱效率也有影响，若需要用水做洗脱液应保证其pH值在8.0左右(可用NaOH将水的pH值调至此范围)，pH值低于7.0会降低洗脱效率；DNA产物应保存在-20℃，以防DNA降解。

4. DNA浓度及纯度检测：得到的基因组DNA片段的大小与样品保存时间、操作过程中的剪切力等因素有关。回收得到的DNA片段可用琼脂糖凝胶电泳和紫外分光光度计检测浓度与纯度。DNA应在OD260处有显著吸收峰，OD260值为1相当于大约50 μg/ml双链DNA、40 μg/ml单链DNA。OD260/OD280比值应为1.7-1.9，如果洗脱时不使用洗脱缓冲液，而使用去离子水，比值会偏低，因为pH值和离子存在会影响光吸收值，但并不表示纯度低。

**保存条件**

RNase A，Proteinase K置于-20℃；其余组成室温保存，Solution B中若有沉淀，可在65℃水浴中重新溶解，不影响试剂盒正常使用。

**仅供科学研究，不得用于临床治疗**