

Onestep-Lysis™ DNA Kit (Polysaccharides & Polyphenolics-rich)

快捷型真菌基因组DNA提取试剂盒（全能型）

目录号：AO3114

试剂盒组成

Component	AO3114 (50 T)	AO3114 (100 T)
Buffer ATG	30 ml	60 ml
Buffer WB2 (concentrate)	13 ml	25 ml
Buffer WB2 (concentrate)	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)	(使用前按瓶上标签加入无水乙醇)
Buffer EB	10 ml	20 ml
Spin Columns AC with Collection Tubes	50	100

保存方法

室温（15 - 30℃）保存。

产品介绍

本试剂盒采用独特的缓冲液系统，可以从多种真菌组织中成功提取高质量DNA，也适用于细菌和一些酵母的DNA提取。

独特配方的裂解液可以沉淀去除各类真菌样本中的蛋白质、多糖以及其他次生代谢物等杂质，提取的基因组DNA纯度高，质量稳定可靠，可以直接用于各种PCR、酶切、文库构建、Southern Blot、芯片检测、高通量测序等实验。

注意事项

提取的样品避免反复冻融，否则影响DNA提取得率和质量。不同来源的真菌组织提取DNA的量会有差异，一般100 mg新鲜组织典型产量可达3 - 25 µg。

第一次使用Buffer WB2前按照试剂瓶标签的说明加入无水乙醇并打钩标记。

Buffer EB中不含有螯合剂EDTA成分，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。

操作步骤（以下所有离心步骤均在室温下进行）

50 - 100 mg真菌组织在液氮中研磨成细粉（或用组织研磨器将组织打碎），迅速转移至已装入600 µl Buffer ATG的离心管中混匀，振荡混匀，彻底匀浆（不要有聚集成团的组织块），室温放置10 min，其间颠倒混匀2 - 3次。

注意：如需除去RNA，可在将样本加到已装入Buffer ATG的离心管中加入4 µl浓度为10 mg/ml的RNase A（货号：AO3114）溶液，涡旋混匀。

1) 请勿在使用前将 Buffer ATG 与 RNase A 混合。2) 裂解物室温孵育，请勿加热。

12,000 rpm ($\sim 13,400 \times g$) 离心 3 min，将上清液 ($\leq 500 \mu l$) 转入 1.5 ml 离心管中。

注意：吸取上清时可以剩余少许，不要吸到沉淀。

加入 0.5 倍上清体积的异丙醇，充分混匀（此时可能会出现沉淀），将得到的溶液和可能产生的沉淀一起转入已装入收集管的吸附柱 (Spin Columns AC) 中。12,000 rpm 离心 1 min，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。

向吸附柱 AC 中加入 600 μl Buffer WB2（使用前请确认是否已加入无水乙醇！），12,000 rpm 离心 1 min，倒掉废液，将吸附柱放回收集管。

注意：如果吸附柱膜呈现绿色，向吸附柱 AC 中加入 500 μl 无水乙醇，12,000 rpm 离心 30 s，弃废液，将吸附柱重新放回收集管中。

重复步骤 4。

将吸附柱 AC 放回空收集管，12,000 rpm 离心 2 min，弃收集管。

注意：这一步的目的是将吸附柱中残余的乙醇去除，乙醇的残留会降低洗脱效率，影响后续的酶促反应（酶切、PCR 等）。为确保下游实验不受残留乙醇的影响，可以将吸附柱放入新的离心管，开盖放置几分钟，以彻底晾干残余乙醇。

将吸附柱 AC 放入新的离心管中，向吸附膜的中间部位滴加 50 - 100 μl Buffer EB，室温放置 3 - 5 min，12,000 rpm 离心 1 min，收集 DNA 溶液。 - 20 保存 DNA。

注意：如果要提高 DNA 的终浓度，可以使用小于 100 μl EB 洗脱，也可以将步骤 7 所得的 DNA 溶液重新加至吸附膜上，再次离心洗脱。如果预期 DNA 的量小于 1 μg ，推荐用 50 μl Buffer EB 进行洗脱。