

版本号: FMI1619

FineMag Fungal DNA Kit

FineMag 磁珠法真菌 DNA 提取试剂盒

目录号:FM305

产品内容:

产品组成	FM305 (50 preps)
Buffer MLP1	25 ml
Buffer MLT	35 ml
Buffer RW1	48 ml
Buffer MW2	24 ml
RNase A (10 mg/ml)	300 μ l
FineMag Particles E	0.85 ml
Buffer TB	15 ml

储存条件:

试剂盒中所有组分可在室温(15-25 $^{\circ}$ C)干燥保存12个月。Buffer MLP1和Buffer MLT在低温下可能会有沉淀析出,可在37 $^{\circ}$ C水浴中重新溶解,摇匀后使用。

本产品仅供科研使用。请勿用于医药、临床治疗、食品及化妆品等用途。

产品简介:

FineMag Fungal DNA Kit 为真菌样品的 DNA 快速制备提供了一个简单快速的解决方案。试剂盒基于超顺磁性的磁性粒子纯化技术,提取过程中无需使用有毒的酚氯仿抽提,也无需进行耗时的醇类沉淀,整个提取过程只需 40 分钟。该试剂盒可整合磁棒法或移液法自动核酸提取仪进行高通量提取实验,也可使用磁力分离架进行手工操作。

FineMag 纯化系统以超顺磁性的纳米磁性粒子为基质,这种磁性粒子在高浓度离液剂的条件下可通过氢键和静电特异的吸附核酸,而蛋白质或其它非特异吸附的少量杂质经洗涤被去除,最后用低盐缓冲液或 RNase-Free ddH₂O 洗脱核酸。纯化的核酸可适用于各种常规操作,包括 PCR、荧光定量 PCR 和病毒检测等各种下游实验。

操作步骤:

使用前请先在 Buffer RW1 和 MW2 中加入无水乙醇,加入体积请参照瓶子上的标签。

一、手工操作步骤:

1. 称取新鲜真菌样品约 50-100 mg 或干燥样品约 15-30 mg,加入液氮充分碾磨。
注意:除液氮研磨外也可使用珠磨仪(如 FastPrep-24,2010 Gene Grinder)或机械匀浆器进行匀浆。采用珠磨仪匀浆时,可加入数粒钢珠或菱角锋利的石榴石等帮助高效地对真菌样品进行分散研磨。真菌样品 DNA 和次级代谢产物含量差异较大,推荐使用 50-100mg 新鲜样品或 15-30mg 干燥样品。若样品用量超过该范围,可按比例增加 Buffer MLP1 和 Buffer MLT。
2. 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有 400 μ l Buffer MLP1 和 5 μ l RNase A (10 mg/ml) 的离心管中,迅速颠倒混匀后,将离心管放在室温 10 min,然后置于 70 $^{\circ}$ C 水浴 10 min,水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。
3. 12,000 rpm (~13,400 \times g) 离心 4 min,转移 300 μ l 上清至新的离心管中。
4. 加入 600 μ l Buffer MLT 和 15 μ l FineMag Particles E,振荡混匀 5 min。
5. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min,待磁珠完全吸附时小心去除液体。
6. 将离心管从磁力架上取下,加入 900 μ l Buffer RW1 (使用前请先检查是否已加入无水乙醇),振荡混匀 30 sec。
7. 将离心管放置磁力架上静置 30 sec,磁珠完全吸附后,小心吸去液体。
8. 重复操作步骤 6 和 7 一次。

9. 加入 900 μ l Buffer MW2 (使用前请先检查是否已加入无水乙醇), 振荡混匀 30 sec.
10. 将离心管放置于磁力架上静置 30 sec, 磁珠完全吸附后, 小心吸去液体。
11. 重复操作步骤 9 和 10 一次。
12. 将离心管于磁力架上, 室温晾干 10 min。

注意: 乙醇残留会抑制后续的酶反应, 所以晾干时要确保乙醇挥发干净。但也不要干燥太长时间, 以免难以洗脱 DNA。

13. 将离心管从磁力架上取下, 加入 60-100 μ l Buffer TB, 振荡混匀 3 min。
14. 将离心管放置于磁力架上静置 1 min, 磁珠完全吸附后, 小心将 DNA 溶液转移至一个新离心管中, 并于适当条件保存。

自动化提取步骤:

使用前请先在 Buffer RW1 和 MW2 中加入无水乙醇, 加入体积请参照瓶子上的标签。

1. 样品列的准备:

1.1 称取新鲜真菌样品约 50-100 mg 或干燥样品约 15-30 mg, 加入液氮充分碾磨。

注意: 除液氮研磨外也可使用珠磨仪 (如 FastPrep-24,2010 Gene Grinder) 或机械匀浆器进行匀浆。采用珠磨仪匀浆时, 可加入数粒钢珠或菱角锋利的石榴石等帮助高效地对真菌样品进行分散研磨。真菌样品 DNA 和次级代谢产物含量差异较大, 推荐使用 50-100mg 新鲜样品或 15-30mg 干燥样品。若样品用量超过该范围, 可按比例增加 Buffer MLP1 和 Buffer MLT。

1.2 将研磨好的粉末迅速转移到预先装有 400 μ l Buffer MLP1 和 5 μ l RNase A (10 mg/ml) 的离心管中, 迅速颠倒混匀后, 将离心管放在室温 10 min, 然后在 70 $^{\circ}$ C 水浴 10 min, 水浴过程中颠倒离心管以混合样品数次。

1.3 12,000 rpm 离心 4 min, 转移 300 μ l 上清至新的离心管中。

1.4 按下表将离心后的上清和 FineMag Particles E 加入 96 孔板的第 1, 7 列中。

孔位	试剂名称与用量
第 1, 7 列	1. 加入 15 μ l FineMag Particles E; 2. 加入 600 μ l Buffer MLT; 3. 加入 300 μ l 步骤 1.3 离心后的上清溶液。

注意: 请在使用前振荡混匀磁珠使其彻底重悬。

2. 试剂分装：

按下表将各种试剂转移至 96 孔板的各列中。

孔位	试剂名称与用量
第 2,8 列	RW1(使用前请先检查是否已加入无水乙醇): 900 μ l
第 3,9 列	RW1(使用前请先检查是否已加入无水乙醇): 900 μ l
第 4,10 列	MW2(使用前请先检查是否已加入无水乙醇): 900 μ l
第 5,11 列	MW2(使用前请先检查是否已加入无水乙醇): 900 μ l
第 6,12 列	Buffer TB: 60 μ l

3. 按表 1 中程序进行自动化提取。

4. 自动化程序结束后，将第 6、12 列 DNA 样品取出，用封口膜封好并保存于-80 $^{\circ}$ C。

表 1. 天隆 NP968 自动化提取程序

步骤	槽位	名称	等待时间 (min)	混合时间 (min)	磁吸时间 (s)	混合速度	体积 (μ l)	温度 ($^{\circ}$ C)
1	1	结合	0	5	30	快	900	--
2	2	RW1_1	0	3	30	快	900	--
3	3	RW1_2	0	3	30	快	900	
4	4	MW2_1	0	3	30	快	900	--
5	5	MW2_2	0	3	30	快	900	--
6	6	TB	5	5	120	快	60	--
7	3	弃磁珠	0	1	0	快	900	--